

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

**“Factores de riesgo asociados a la seroprevalencia de
Toxoplasma gondii en mamíferos de orden carnívora y
primate mantenidos en cautiverio”**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Dennis Alexander Navarro Mamani

Lima – Perú

2014

DEDICATORIA

**A Dios, a mis Padres,
hermanos, y amigos; y todos
los que contribuyeron a la
ejecución y logro de este
trabajo de investigación**

AGRADECIMIENTOS

A todos los miembros del Laboratorio de Parasitología de la FMV-UNMSM, a los integrantes del Círculo de Investigación de Parasitología y al Zoológico Patronato Parque de las Leyendas por su apoyo desinteresado en la ejecución de este trabajo de tesis

ÍNDICE

RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	ii
LISTA DE CUADROS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
I.INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Evolución histórica de la Toxoplasmosis.....	3
2.2. Clasificación y biología de <i>Toxoplasma gondii</i>	5
2.2.1. Clasificación taxonómica.....	5
2.2.2. Estadios de desarrollo.....	5
2.2.2.1. Taquizoíto.....	5
2.2.2.2. Bradizoíto.....	6
2.2.2.3. Ooquiste.....	8
2.2.3. Rango de Hospederos.....	9
2.2.4. Ciclo biológico.....	10
2.2.4.1. Ciclo enteroepitelial o sexual.....	10
2.2.4.2. Ciclo extraintestinal o asexual.....	12
2.3. Transmisión.....	14
2.3.1. Transmisión de ooquistes.....	14
2.3.1.1. Eliminación de ooquistes.....	14
2.3.1.2. Reeliminación de ooquistes.....	15
2.3.1.3. Resistencia de los ooquistes.....	16
2.3.1.4. Diseminación de ooquistes.....	16
2.3.2. Trasmisión de quistes tisulares.....	17
2.3.3. Trasmisión de taquizoítos.....	18
2.4. Epidemiología.....	18
2.4.1. Parásito.....	18
2.4.2. Hospedero.....	19
2.4.2. Medio Ambiente.....	20
2.5. Factores de riesgo.....	21
2.5.1. Presencia de félidos domésticos y silvestres.....	21

2.5.2. Edad o grupo etario	21
2.5.3. Procedencia del animal	22
2.5.4. Sexo	22
2.5.5. Tipo de Alimentación	22
2.5.6. Presencia de roedores	22
2.6. Prevalencia de la Toxoplasmosis	23
2.7. Importancia en Salud Pública	26
2.8. Patología	26
2.8.1. Patogenia	26
2.8.2. Signos clínicos	27
2.8.2.1. En animales domésticos	27
2.8.2.2. En animales silvestres	28
2.9. Inmunidad	29
2.10. Diagnóstico	31
2.10.1. Diagnóstico serológico	31
2.10.1.2. Prueba de Sabin y Feldman o Dye test	31
2.10.1.3. Hemaglutinación indirecta	32
2.10.1.4. Inmunofluorescencia indirecta	32
2.10.1.5. Ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas	33
2.10.1.6. Técnica de aglutinación modificada	33
2.11. Tratamiento	33
2.12. Prevención y control	34
III. MATERIALES Y MÉTODOS	37
3.1. Lugar y tiempo	37
3.2. Animales silvestres en estudio	37
3.2.1. Toma de muestra de animales silvestres	37
3.3. Roedores (<i>Rattus</i> sp.) y felinos domésticos en estudio	39
3.3.1. Captura de roedores y obtención de muestras sanguíneas	39
3.3.2. Captura de gatos y obtención de muestras sanguíneas	39
3.4. Análisis serológico	40
3.5. Encuesta epidemiológica	40
3.6. Análisis estadístico	40
3.7. Consideraciones éticas	40
IV. RESULTADOS	41

V. DISCUSIÓN.....	47
VI.CONCLUSIÓN.....	54
VII. RECOMENDACIONES.....	55
VI. LITERATURA CITADA.....	56

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la seroprevalencia de *T. gondii* en mamíferos del Orden Carnivora y Primates mantenidos en cautiverio e identificar las variables epidemiológicas que intervienen en su presentación. El trabajo se desarrolló en el zoológico del Patronato del Parque de las Leyendas, distrito de San Miguel. Se colectaron muestras de sangre a 101 animales silvestres pertenecientes a las órdenes Carnivora (49) y Primates (52); así como de 87 roedores y 18 felinos domésticos obtenidos mediante el uso de trampas de captura viva. Las muestras de suero fueron conservadas en refrigeración y procesadas en el Laboratorio de Parasitología de la FMV-UNMSM. Se realizaron encuestas para identificar los potenciales factores de riesgo de cada Orden muestreada. Asimismo se obtuvo información concerniente de cada roedor (parámetros morfométricos, edad estimada, sexo y peso) y felino doméstico (edad, sexo). Para el diagnóstico de *T. gondii* se utilizó la técnica de Hemaglutinación Indirecta, preparándose diluciones de 1:16 a 1:2048, considerándose como positivos títulos mayores a 1/16. Se determinó anticuerpos IgM mediante el uso del 2-Mercaptoetanol para determinar una infección aguda. La frecuencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en roedores (*Rattus* sp.) y gatos procedentes de un área de tenencia de animales silvestres fue de 25,3 y 77,8 % respectivamente. La asociación entre la seroprevalencia a *T. gondii* y cada una de las variables evaluadas (sexo, origen, tiempo en la institución y tipo de alimentación) fue analizada mediante la razón de posibilidades (odds ratio—OR) con su respectivo IC 95%. La seroprevalencia de *T. gondii* en mamíferos del Orden Carnivora y Primates criados en cautiverio fue de 87,8 y 80,8% respectivamente. Se encontró asociación significativa ($p<0.05$) entre la seroprevalencia de *T. gondii* en Primates y el tipo de alimentación, donde el ser omnívoro constituyó un factor de riesgo (OR: 40,9), para la presentación de la infección. No fue encontrada asociación significativa ($p>0.05$) con el sexo, origen y tiempo en la institución.

PALABRAS CLAVES: factor de riesgo, *Toxoplasma gondii*, seroprevalencia, Carnivora, Primates.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the seroprevalence of *T. gondii* in captive wild animals, and identify the epidemiologic variables involved in its presentation. The study took place at the Patronato del Parque de las Leyendas Zoo in the district of San Miguel. 101 blood samples were collected from wild animals belonging to the order Carnivora (49) and Primates (52). In addition, 87 urban rodents and 18 domestic cats were collected using live catch traps. Samples were stored in refrigeration and processed at the Laboratory of Parasitology of the FMV-UNMSM. Surveys were done to identify potential risk factors, for each sampled Order. Furthermore, other data was obtained, from rodents (morphometric parameters, estimated age, sex and weight) and cats (age and sex). Indirect Hemagglutination test was used for the diagnosis of *T. gondii*. Dilutions were prepared from 1:16 to 1:2048, considering positive a titer over 1/16. IgM antibodies were measured by using 2-Mercaptoethanol to determine an acute infection. The frequency of anti-Toxoplasma gondii antibodies in rodents (*Rattus* sp.) and cats from captive wildlife setting were 25.3 and 77.8%, respectively. The association between the seroprevalence to *T. gondii* to each of the evaluated variables (sex, origin, time in the institution and type of alimentation) was analyzed by using the odds ratio (OR) with a 95% confidence interval (CI). La frecuencia de anticuerpos anti- *Toxoplasma gondii* en roedores (*Rattus* sp.) y gatos procedentes de un área de tenencia de animales silvestres fue de 25,3 y 77,8 % respectivamente. The seroprevalence of *T. gondii* in captive mammals from the Carnivora and Primates Order were 87,8 and 80,8%, respectively. Significant association ($p < 0.05$) was found between the seroprevalence of *T. gondii* in Primates and the type of food. Omnivore diet, had a risk factor (OR: 40.9), for the presentation of the infection. No significant association was found ($p > 0.05$) with sex, origin and time in the institution.

KEYWORDS: risk factor, *Toxoplasma gondii*, seroprevalence, Carnivora, Primates

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Prevalencia Ooquistes de <i>T. gondii</i> en heces de gatos (1988-2008).....	15
Cuadro 2.	Informes de ooquistes (probadas por bioensayos en ratones) eliminados por gatos según edad.....	16
Cuadro 3.	Seroprevalencia mundial de <i>Toxoplasma gondii</i> en mamíferos silvestres del Orden Primates.....	23
Cuadro 4.	Seroprevalencia mundial de <i>Toxoplasma gondii</i> en mamíferos silvestres del Orden Carnívora.....	24 y 25
Cuadro 5.	Relación de mamíferos silvestres, pertenecientes al Orden Carnívora y Primates, sujetos al control sanitario anual realizado por el Parque Zoológico. Lima 2013-2014.....	38
Cuadro 6.	Seroprevalencia de <i>Toxoplasma gondii</i> y su asociación a factores de riesgo en mamíferos del Orden Carnívora mantenidos en cautiverio en un Zoológico de Lima, Perú, 2014.....	42
Cuadro 7.	Seroprevalencia de <i>Toxoplasma gondii</i> y su asociación a factores de riesgo en mamíferos del Orden Primates mantenidos en cautiverio en un Zoológico de Lima, Perú, 2014.....	43
Cuadro 8.	Distribución de anticuerpos totales y anticuerpos IgM anti- <i>T. gondii</i> en mamíferos del Orden Carnívora y Primates mantenidos en cautiverio en un Zoológico de Lima, 2014.....	44
Cuadro 9.	Frecuencia de títulos de anticuerpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> en mamíferos del Orden Carnívora y Primates mantenidos en cautiverio en un Zoológico de Lima, 2014.....	45
Cuadro 10.	Frecuencia de anticuerpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> en roedores del género <i>Rattus</i> sp. procedentes de un área de tenencia de animales silvestres. Lima, 2014.....	46
Cuadro 11.	Frecuencia de anticuerpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> en felinos domésticos procedentes de un área de tenencia de animales silvestres. Lima, 2014.....	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Esquema comparativo del Taquizoíto y Bradizoíto de <i>Toxoplasma gondii</i>	8
Figura 2.	Dibujo esquemático de Ooquiste no esporulado y esporulado de <i>T. gondii</i>	9
Figura 3.	Fase enteroepitelial de la toxoplasmosis.....	11
Figura 4.	Ciclo biológico de <i>Toxoplasma gondii</i>	13

I. INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una zoonosis de distribución mundial producida por el protozoo *Toxoplasma gondii*, se ha demostrado su presencia en todas las latitudes, tanto en poblaciones humanas como en más de 300 especies de mamíferos domésticos y silvestres, y en cerca de 30 especies de aves de corral y silvestres (Dubey, 2010). La infección se encuentra ampliamente distribuida en América Latina, principalmente en países tropicales de clima caliente y húmedo, ocurriendo también en regiones frías del Ártico y Alaska (Sobral *et al.*, 2005).

Los felinos (domésticos y silvestres) son los hospederos definitivos que eliminan ooquistes no esporulados al medio ambiente, los cuales en condiciones favorables de temperatura y humedad esporulan y constituyen la forma infectiva para otras especies animales y hasta para el mismo felino (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). Dichos ooquistes presentan una alta resistencia, constatada en diferentes experiencias, capaces de soportar condiciones extremas como sequías y heladas favoreciendo la diseminación del parásito, el cual ha demostrado ser viable hasta por 18 meses (Dubey, 2010). Otra forma de infección es a partir de quistes tisulares presentes, mayoritariamente, en la carne de ratones, aves y herbívoros que previamente han ingerido ooquistes esporulados (Dubey, 2010).

La prevalencia de la toxoplasmosis en diferentes áreas está relacionada a factores sociales, económicos, culturales, geográficos y climáticos, ya que el riesgo de infección por toxoplasmosis es mayor en la población rural debido a sus hábitos y al contacto frecuente con las fuentes de infección (García *et al.*, 1999). Asimismo, los

parques zoológicos representan un ecosistema, en el cual están presentes todos los factores epidemiológicos que favorecen y contribuyen a la transmisión y diseminación del parásito (de Camps *et al.*, 2008).

Además, estudios serológicos han demostrado una alta prevalencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en animales silvestres en cautiverio, lo cual indicaría una difusión importante de este agente en este entorno, y muchas veces los aspectos epidemiológicos que influyen en su presentación son poco estudiados. Asimismo, ciertas especies de mamíferos silvestres (Marsupiales australianos, primates del nuevo mundo, lemures, etc.) presentan mayor susceptibilidad y pueden morir de una toxoplasmosis aguda, es por ello que la infección por *T. gondii* en animales de zoológico es de particular interés porque muchas de estas especies cursan con una infección asintomática (de Camps *et al.*, 2008).

Por otro lado, la presencia de una alta prevalencia de *Toxoplasma* en dicho entorno representaría un riesgo potencial de exposición para el personal que labora en el establecimiento, así como para niños, ancianos y personas inmunodeprimidas que acuden a dichos centros de esparcimiento. Por todo lo señalado anteriormente, el objetivo del presente estudio fue determinar la seroprevalencia de *T. gondii* en mamíferos del Orden Carnívora y Primates criados en cautiverio, así como identificar las variables epidemiológicas que intervienen en su presentación.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Evolución histórica de la Toxoplasmosis

El agente etiológico fue descubierto simultáneamente en 1908 por Nicolle y Monceaux, en un roedor africano “el gundi” (*Ctenodactylus gundi*) en aquel tiempo utilizado en la búsqueda de la Leishmaniasis en el Instituto Pasteur de Túnez (Citado por Dubey, 2010) y por Splendore en un conejo de laboratorio de Sao Paulo, en Brasil (Citado por Dubey, 2010). Estos hallazgos en distintos países y diferentes especies, vaticinaban la amplia distribución de hospederos, suposiciones que fueron afirmadas posteriormente (Amato Neto *et al.*, 1995).

En 1913, se identificó en el hombre por primera vez, su descubridor fue Castelloni quien lo encontró en un niño de Ceilán y fue el primer caso de toxoplasmosis congénita descrito en la especie humana; pero no fue hasta 1923, cuando Janku, un oftalmólogo Checoslovaco, describió la presencia de *Toxoplasma gondii* en la retina de un niño que había fallecido con un cuadro de coriorretinitis acompañada con microftalmia (Citado por Flores, 1991).

En 1927, Torres en Río de Janeiro describía la presencia del microorganismo en cortes histológicos de musculatura cardíaca, esquelética y de cerebro de un recién nacido con 29 días de vida, iniciando especulaciones acerca de la posibilidad de ocurrencia de la enfermedad congénita (Citado por Mereiles, 2001).

En 1942, Olafson y Monlux describieron la toxoplasmosis en los gatos y se refirieron a la transmisión por consumo de carne mal cocida. En el mismo año, Springer y Johnson describieron epizootias extensas en cerdos, conejos, palomas y otros animales y explicaron la forma de contagio para el humano (Citado por Dubey, 2010).

En el año 1948, Sabin y Feldman describieron la primera técnica serológica de diagnóstico, basada en la inhibición de la coloración que experimentan los toxoplasmas cuando se ponen en contacto con anticuerpos específicos (Citado por Pantoja y Pérez, 2001).

En ese mismo año Frenkel introdujo la prueba de sensibilidad cutánea a la toxoplasmina en el reconocimiento de la parasitosis. Por otro lado, en 1957 fue introducida la reacción de hemaglutinación por Jacobs y Lunde y, en 1962, la inmunofluorescencia indirecta por Kelen *et al.* (Citado por Dubey, 2010).

En 1965, Hutchison hizo la observación, confirmada por otros autores, que cuando los gatos comían ratones infectados por *T. gondii*, la infección podía volver a transmitirse al ratón u otros animales mediante las heces del gato, incluso tras su conservación en agua durante 1 año o más. Pronto se demostró que el *T. gondii* es un parásito perteneciente a los coccidios del gato doméstico, el conejo y otros animales (Citado por Dubey, 2010). Este hecho alertó acerca de la importancia del gato en el ciclo como hospedero definitivo y, por lo tanto, en la transmisión de la enfermedad.

En 1970, el conocimiento del ciclo evolutivo de *Toxoplasma gondii*, fue completado con el hallazgo de fases sexuales en el intestino del gato. En 1981, se consideró a *T. gondii* como causa importante de abortos y de mortalidad perinatal en ovinos en Australia, Nueva Zelanda y Gran Bretaña (Citado por Dubey, 2010).

Finalmente en 1997, Bowie *et al.* realizaron un estudio sobre la probable contaminación del agua de consumo con *Toxoplasma*. (Citado por Dubey, 2010). Desde estos hechos hasta la fecha se ha continuado profundizando las investigaciones relacionadas con la toxoplasmosis, por tratarse de una zoonosis de amplia distribución mundial.

2.2. Clasificación y biología de *Toxoplasma gondii*

2.2.1. Clasificación taxonómica: *Toxoplasma gondii* pertenece al:

PHYLLUM: Apicomplexa (Levine, 1970)

CLASE: Sporozoea (Leukart, 1879)

SUBCLASE: Coccidia (Leukart, 1879)

ORDEN: Eimeriorina (Léger, 1911)

FAMILIA: Toxoplasmodiidae (Biocca, 1956)

GÉNERO: *Toxoplasma* (Nicolle y Manceaux, 1909)

T. gondii, es la única especie de *Toxoplasma* (Dubey, 2010)

2.2.2. Estadios de desarrollo

Existen tres estadios de desarrollo: taquizoíto, bradizoíto y ooquiste. En los mamíferos y las aves, el parásito existe en dos formas: el taquizoíto, de multiplicación rápida; y el bradizoíto de multiplicación lenta, mientras que en el gato, existen las tres formas mencionadas (Soulsby, 1987; Dubey, 2004).

2.2.2.1. Taquizoíto

Anteriormente denominado forma proliferativa, trofozoíto, endozoíto o endodiozoíto, correspondiente a un estado de multiplicación rápida, presente en la fase aguda de la infección (Dubey *et al.*, 1998 Acha y Szyfres, 2003). Tiene forma de media luna, uno de sus extremos es afinado y el otro redondeado, de tamaño variable, midiendo 3.5 a 7.5µm de largo por 1.5 a 3µm de ancho (Pizzi, 1997).

Ultraestructuralmente contiene diversas organelas como mitocondrias, complejo de Golgi, ribosomas, roptrias, retículo endoplásmico rugoso y liso; así como cuerpos de inclusión, película protectora, microtúbulos subpeliculares, anillos apicales, anillos polares, conoide, micronemas, microporo, gránulos densos, gránulos de

amilopeptina (que pueden estar ausentes) y apicoplasto (Xu *et al.*, 1989; Dubey *et al.*, 1998). El núcleo está generalmente situado hacia el extremo posterior o en la zona central de la célula (Samuel *et al.*, 2001).

El conoide está asociado a la penetración debido a sus propios movimientos y prominencia (Dubey *et al.*, 1998). Los micronemas, los roptries y gránulos densos son especializados en la invasión debido a que secretan enzimas proteolíticas a través del conoide (Kim y Weiss, 2008).

El taquizoíto puede infectar, por penetración activa o por fagocitosis (Morisaki *et al.*, 1995; Speer *et al.*, 1997), en células fagocitarias y no fagocitarias, y en otros tipos de células. Después de ingresar a la célula, el taquizoíto se vuelve ovoide y es rodeado por una vacuola parasitófora, la cual parece originarse tanto de la célula hospedera como del parásito (Dubey *et al.*, 1998).

Dentro de la célula se multiplica rápidamente por endodiogenia y cuando la célula infectada no puede albergar más parásitos estalla, dejando en libertad numerosos taquizoítos que invaden diferentes tipos de células hospedadoras (Atías 1991; Teneter *et al.*, 2000). La tasa de invasión y desarrollo varía, dependiendo de la virulencia de la cepa de *T. gondii* y el estado inmunológico del hospedero (Pizzi, 1997).

Durante el estado agudo de la infección, el taquizoíto puede estar presente en la sangre, saliva, secreción nasal, orina, mucosa vaginal (Dubey, 1980), leche, semen (Luzón *et al.*, 1997), placenta y fetos de animales infectados (Sanger *et al.*, 1953; Spence *et al.*, 1978); así como en una amplia variedad de tejidos.

El taquizoíto es sensible al calor, frío, desecación, drogas específicas (Pizzi, 1997) y jugo gástrico por lo que no pueden transmitirse por vía digestiva (Dubey, 1998; Gómez, 2004), son sensibles a la mayor parte de los desinfectantes como el hipoclorito de sodio al 1% o el etanol al 70% (Gómez, 2004).

2.2.2.2 Bradizoíto

También conocido como merozoíto, quistozoíto y cistozoíto de multiplicación lenta dentro de un quiste tisular, presente en la fase crónica de la infección (Atías, 1991;

Dubey *et al.*, 1998). Es de forma de media luna, mide 7µm de largo por 2µm de ancho y son más delgados que los taquizoítos (Botero y Restrepo, 1998; Dubey *et al.*, 1998).

Los bradizoítos aunque son morfológicamente similares a los taquizoítos (Figura 1), contienen más cantidad de micronemas y gránulos de amilopectina y presentan mayor resistencia a la pepsina y la tripsina (Dubey y Frenkel, 1976). El núcleo del bradizoíto está situado hacia la parte posterior, el contenido de roptrias es eléctricamente denso; sin embargo esto varía con la edad del quiste tisular, contiene varios gránulos de amilopectina que se tiñen de rojo con el ácido periódico de Schiff (PAS) reactivo (Dubey *et al.*, 1998).

El bradizoíto también se reproduce por endodiogenia, segregando precipitados granulares que se adosan a la membrana vacuolar circundante (propia de la célula), la pared del quiste es elástica y delgada y se expande lentamente a medida que se multiplican los parásitos, formando así los quistes tisulares que crecen y permanecen intracelularmente (Ferguson y Hutchinson, 1997).

Los quistes tisulares varían desde 5µm hasta 100 ó 200µm dependiendo de su edad; a medida que envejece aumenta de tamaño por el mayor número de bradizoítos contenidos (Atías, 1991). Los quistes pueden desarrollarse en órganos viscerales como pulmones, hígado y riñones, pero existe mayor prevalencia en ojo, cerebro (donde son a menudo esferoidales y raramente alcanzan un diámetro de 70µm), corazón y músculo esquelético (los quistes intramusculares son elongados y pueden medir hasta 100µm de largo) (Dubey y Beattie, 1988; Dubey *et al.*, 1998). Los quistes intactos no ocasionan ningún daño y pueden persistir latentes durante toda la vida del hospedero sin causar una respuesta inflamatoria (Dubey *et al.*, 1998).

Los quistes tisulares son relativamente resistentes a cambios de temperatura, manteniéndose activos en refrigeración (1 a 4°C) en carcasas o carne picada por encima de 3 semanas, además pueden sobrevivir al congelamiento entre temperaturas de -1 a -8°C por una semana (Teneter *et al.*, 2000), asimismo pueden sobrevivir por 32 días a temperatura de 3 a 5°C, en órganos de animales muertos a 20°C por 3 días; en el encéfalo a 4°C por 10 a 20 días (Flores, 1991), sin embargo son destruidos cuando se congelan a -20°C por 24 horas y después se descongelan, asimismo cuando se calientan a temperaturas mayores de 67°C (Dubey y Lappin, 2000).

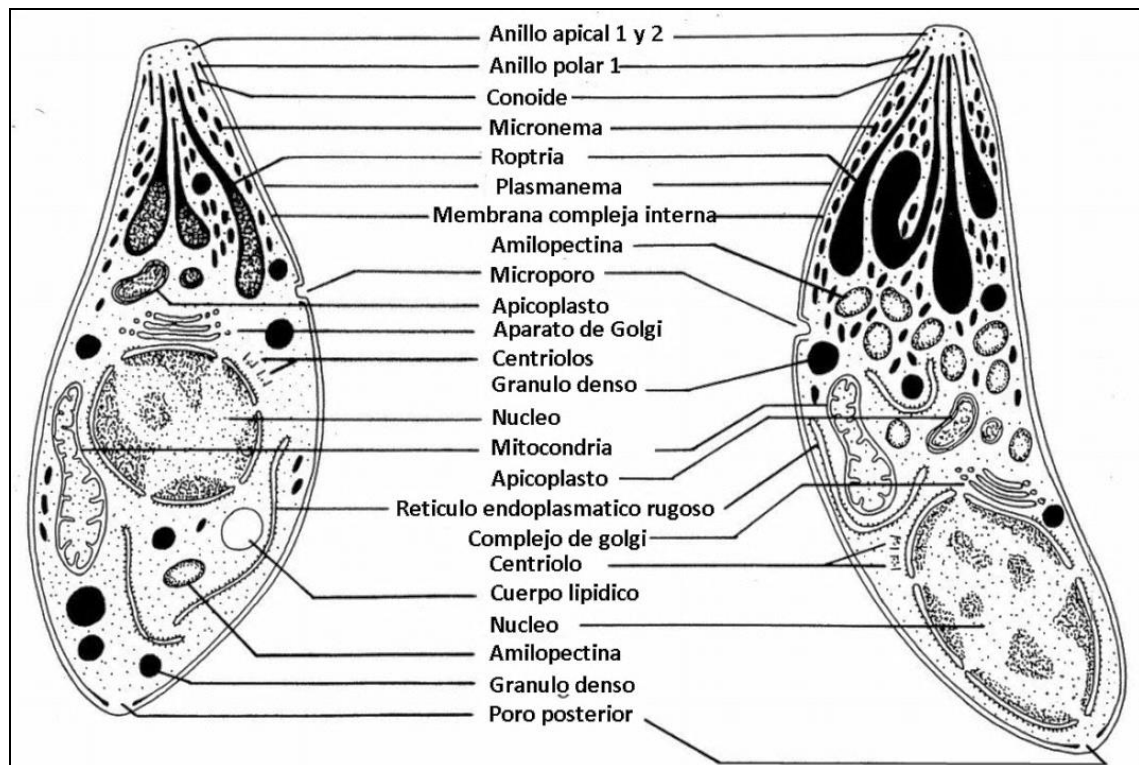


Figura 1. Esquema comparativo del Taquizoíto y Bradizoíto de *Toxoplasma gondii*. (Adaptado de Dubey, 2010).

2.2.2.3. Ooquiste

El ooquiste no esporulado es subesférico a esférico, su pared consta de dos láminas, los gránulos polares están ausentes, mide de 10 a 12µm de diámetro y contiene en su interior el esporonte que ocupa casi todo el ooquiste (Figura 2). Los ooquistes son excretados junto con las heces del hospedero definitivo (félicos) al medio ambiente después de 5 a 10 días de la infección inicial (Teneter *et al.*, 2000), estos carecen de capacidad infectante y su esporulación depende de condiciones de aireación, temperatura y humedad, produciéndose la esporogonia después de 1 a 5 días (Dubey *et al.*, 1970; Dubey y Frenkel, 1972; Dubey *et al.*, 1998).

El ooquiste esporulado es subesférico a elipsoidal, mide de 11 a 13µm de diámetro y ultraestructuralmente su pared consiste de 3 láminas: una lámina externa electrodensa, una lámina media electrolúcida y una lámina interna moderadamente electrodensa (Dubey *et al.*, 1998). Cada ooquiste contiene dos esporoquistes de forma elipsoidal que miden de 6 a 8µm y cada esporoquiste contiene cuatro esporozoítos cada

uno de 6 a 8µm de largo por 2µm de ancho (Figura 2), los cuales presentan un núcleo subterminal y la mayoría de organelas encontradas en otras coccideas (Soulsby, 1987; Atías y Thiermann 1997; Dubey *et al.*, 1998; Dubey y Lappin, 2000; Dubey, 2004).

Los ooquistes esporulados pueden sobrevivir en el suelo húmedo hasta 18 meses y mantener su habilidad infectante (Llop *et al.*, 2001), resisten condiciones extremas tales como la sequía y las heladas, hecho que favorece la diseminación del parásito. En un estudio realizado por Dubey (1998), sobre la capacidad infectante de los ooquistes a diferentes temperaturas, demostró que ésta no se alteraba cuando dichas formas infectantes eran sometidas a 10, 15, 20 y 25°C durante 200 días y a -5 y -10°C durante 106 días. Asimismo, es resistente al jugo gástrico y por una hora a la tintura de yodo a 2%, solución sulfocrómica, etanol a 95%, hidróxido de sodio y ácido hipocloroso al 10% (Amato Neto *et al.*, 1995). Sin embargo son sensibles al yodo y al formol, y son inactivados con temperaturas superiores a los 66 °C en menos de 10 minutos (Gómez, 2004).

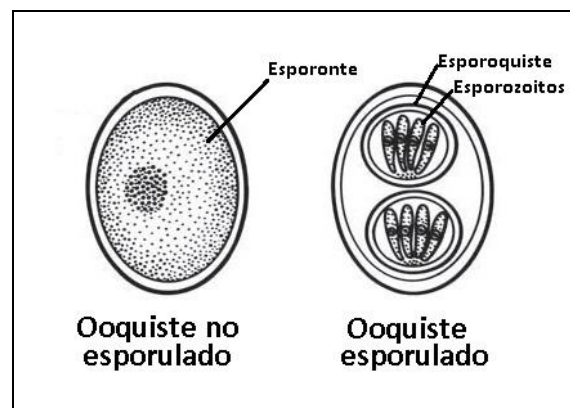


Figura 2. Dibujo esquemático de Ooquiste no esporulado y esporulado de *T. gondii*. (Adaptado de Dubey, 2010).

2.2.3. Rango de Hospederos

Se ha descrito de manera natural como hospederos definitivos de *T. gondii*, a los gatos domésticos (Frenkel *et al.*, 1970) y felinos silvestres como *Felis concolor* (Marchiondo *et al.*, 1976), *Oncifelis colocolo* (Pizzi *et al.*, 1978), *Felis iriomotensis* (Akuzawa *et al.*, 1987), *Panthera tigris altaica* (Dorny y Fransén, 1989), *Felis euphilurus*, *Oncifelis geoffroyi*, *Felis silvestris* (Lukešová y Literák, 1998) y *Felis concolor vancouverensis* (Aramini *et al.*, 1998). De manera experimental se ha descrito

en *Felis bengalensis* (Janitschke y Warner, 1972; Miller *et al.*, 1972), *Felis yagouaroundi* (Jewell *et al.*, 1972) y *Felis lybica* (Polomoshnov, 1979). Y se ha demostrado de manera natural y experimental en *Felis pardalis* (Jewell *et al.*, 1972; Patton *et al.*, 1986), *Acinonyx jubatus* (Marchiondo *et al.*, 1976; Polomoshnov, 1979), *Lynx rufus* (Marchiondo *et al.*, 1976), *Panthera leo* (Polomoshnov, 1979) y *Felis manul* (Polomoshnov, 1979; Dubey *et al.*, 1988; Basso *et al.*, 2005).

Se ha demostrado que los hospederos intermediarios son todos los animales de sangre caliente (Frenkel *et al.*, 1970), y que los moluscos pueden servir como hospederos parenéticos para la diseminación de ooquistes en el océano (Arkush *et al.*, 2003; Lindsay *et al.*, 2004; Miller *et al.*, 2008).

2.2.4. Ciclo biológico

El ciclo biológico de *T. gondii* comprende la Fase Enteroepitelial, que ocurre en el hospedero definitivo; y la Fase Extraintestinal, que se da en los hospederos intermediarios. Una tercera fase ocurre entre las antes mencionadas, la Fase Esporogónica (Figura 3), que acontece en el medio ambiente. Los hospederos definitivos son el gato doméstico (Dubey *et al.*, 1970) y los felinos silvestres (Jewell *et al.*, 1972), mientras que los hospederos intermediarios son todos los animales de sangre caliente, incluyendo al hombre y al propio gato (Acha y Szyfres, 2003).

2.2.4.1. Ciclo enteroepitelial o sexual

La infección se puede producir por la ingestión de tres formas de este parásito:

- **Quistes tisulares con bradizoítos**, a partir de tejidos de animales con toxoplasmosis crónica.
- **Taquizoítos**, procedentes de tejidos de animales con toxoplasmosis aguda.
- **Ooquistes esporulados**, por consumo de agua o alimentos contaminados con heces de gatos y con infección patente (Luzón *et al.*, 1997; Acha y Szyfres, 2003; Dubey, 2004).

De todas ellas, la ingestión de hospederos intermediarios infectados con quistes tisulares (bradizoítos) es la forma de infección más común en el gato y en menor grado la de taquizoítos debido a que no resisten la digestión enzimática (Dubey y Lappin,

2000). Una vez ingeridos los quistes u ooquistes, a nivel del estómago e intestino las enzimas digestivas disuelven su pared liberándose los bradizoítos o esporozoitos, los cuales penetran en las células epiteliales del intestino delgado e inician los cinco tipos (A, B, C, D, E) de etapas asexuales morfológicamente distintas (Soulsby, 1987; Luzón *et al*, 1997; Dubey y Lappin, 2000).

Después de un número indeterminado de generaciones (esquizogonias) los merozoítos liberados del tipo D o E penetran en nuevas células y forman microgamontes (masculinos) y macrogamontes (femeninos) comenzando así la fase sexual del ciclo (gametogonia). Los microgamontes se dividen y forman varios microgametos biflagelados, los cuales se liberan y migran hacia los macrogamontes y penetran en ellos; alrededor del macrogamonte fertilizado se forma una pared para constituir un ooquiste diploide y no esporulado (Dubey y Lappin, 2000; Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

Miles a millones de ooquistes son excretados por los felinos una sola vez en su vida (luego de la primoinfección), en un período corto de 3 a 21 días y al adquirir la inmunidad cesa la producción de los mismos. El período prepatente y frecuencia de eliminación de ooquistes varía de acuerdo al estadio ingerido de *T. gondii* (Dubey y Frenkel, 1976; Freyre, 1989). El período prepatente es de 3 a 10 días después de la ingestión de quistes tisulares y más del 97% de felinos eliminan ooquistes (Dubey y Lappin, 2000); es 18 días después de la ingestión de ooquistes esporulados y 13 días después de la ingestión de taquizoítos u ooquistes (Dubey *et al.*, 1998).

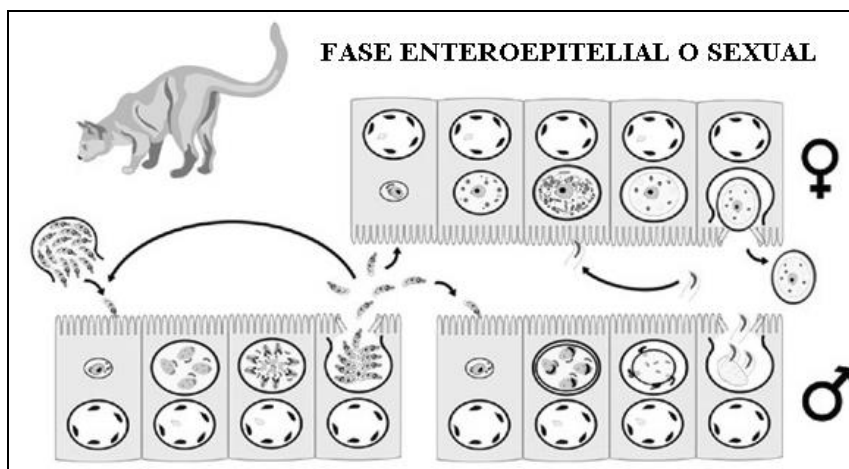


Figura 3. Fase enteroepitelial de la toxoplasmosis

Cuando la infección se produce por la ingestión de taquizoítos u ooquistes, el número de ooquistes eliminados es mucho menor (Luzón *et al*, 1997) y menos del 30% de estos gatos eliminan ooquistes (Dubey y Frenkel, 1976), asimismo menos del 20% de estos gatos los gatos serán positivos a una prueba serológica (Dubey, 1996). No se conoce con certeza las diferencias en el ciclo de vida que expliquen este retraso y resistencia, pero es probable que los bradizoítos sean precursores de la replicación enteroepitelial (Dubey y Lappin, 2000). Los ooquistes esporulan de 1 a 5 días en el medio exterior, conteniendo dos esporoquistes, cada uno con cuatro esporozoítos; y pueden sobrevivir en el suelo húmedo hasta 18 meses y mantener su habilidad infectante (Luzón *et al.*, 1997; Llop *et al.*, 2001).

2.2.4.2. Ciclo extraintestinal o asexual

Este ciclo ocurre en todos los animales de sangre caliente e incluso en el mismo felino, tras la ingesta de carne sin cocinar que contenga quistes tisulares, o por el consumo de alimentos contaminados con heces que contengan ooquistes esporulados, siendo ésta última la forma más común de infección en herbívoros (Leguía y Casas, 1999). Después de la ingesta de quistes tisulares u ooquistes estos son degradados en el intestino donde se liberan los bradizoítos o esporozoítos, los cuales ingresan en la lámina propia del intestino delgado y comienzan a multiplicarse como taquizoítos.

Los taquizoítos atacan preferentemente a los monocitos, histiocitos, leucocitos, linfocitos y células endoteliales, sobre todo las de revestimiento peritoneal, así como las células reticuloendoteliales y principalmente el sistema nervioso central (Flores, 1991). Los macrófagos sirven luego como vehículos para la diseminación hematógena de los taquizoítos hacia los tejidos extraintestinales pocas horas después de la infección (Biage, 2004). Pueden ingresar prácticamente a cualquier célula y multiplicarse, la célula hospedera eventualmente se rompe y los taquizoítos liberados ingresan a nuevas células.

La reproducción sucesiva, por endodiogenia lleva a la producción de una gran masa de parásitos en la célula huésped, que se cubre de una etapa quística formada por el hospedero. Esta masa de parásitos no es un quiste, pues su cubierta no es producida por el parásito; se llama pseudoquiste. Cada pseudoquiste contiene miles de trofozoítos. Conforme el pseudoquiste se llena de parásitos va reforzando su cubierta, aparecen los

bradizoítos, que reducen en forma notable sus procesos metabólicos y permanecen inactivos durante tiempo prolongado, por lo cual son poco vulnerables a los medicamentos (Biage, 2004).

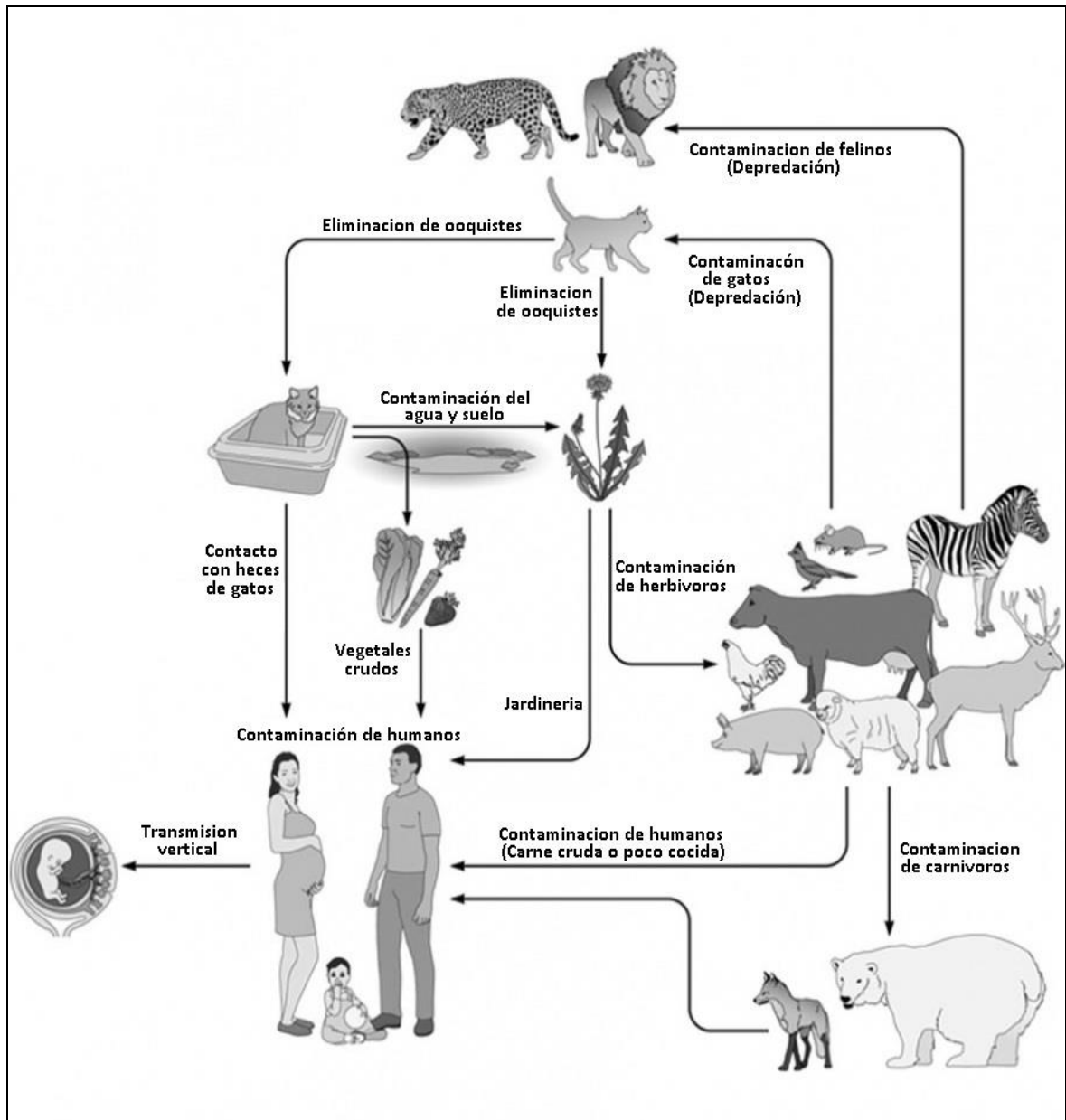


Figura 4. Ciclo biológico de *Toxoplasma gondii* en medio urbano y silvestre (Adaptado de Dubey, 2010).

A medida que se desarrolla la resistencia del hospedero, aproximadamente tres semanas después de la infección, los taquizoítos comienzan a desaparecer de los tejidos viscerales, transformándose en bradizoítos dentro de quistes tisulares. Estos quistes son más frecuentes en el músculo esquelético, cerebro y miocardio, por lo general no causan

reacción en el hospedero y pueden persistir de por vida (Martínez-Fernández *et al.*, 1998). El cerebro constituye un refugio especial de los quistes, debido al hecho de que está protegido de los anticuerpos por la barrera hematoencefálica, carece de un sistema linfático y presenta niveles muy bajos de expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

2.3. Transmisión

2.3.1. Transmisión de ooquistes

Los ooquistes son esenciales en el ciclo biológico de *T. gondii*, y como se dijo anteriormente, tanto gatos (*Felis domesticus*) y otros felinos pueden eliminar los ooquistes (Dubey, 2010). La población felina se aproxima mucho a la humana, especialmente en el mundo occidental, por ejemplo, aproximadamente un tercio de los hogares en Estados Unidos tiene un gato, y este número está en constante aumento. Existen aproximadamente 78 millones de gatos domésticos y 73 millones de felinos silvestres, asimismo es probable que casi todas las granjas en los Estados Unidos tengan un gato, ya que en un estudio de explotaciones porcinas en Illinois, 366 gatos fueron atrapados en 43 granjas, con una media de 8,5 gatos por explotación y con una media de 6 gatos seropositivos por granja. Por lo tanto hay un gran potencial de transmisión de *T. gondii* en zonas rurales y urbanas (Weigel *et al.*, 1999).

2.3.1.1. Eliminación de ooquistes por gatos infectados naturalmente.

En estudios epidemiológicos, es más significativo la información obtenida por seroprevalencia que de prevalencia de ooquistes en las heces, ya que en varios estudios a nivel mundial se encontró que hasta el 100% de los gatos tenían anticuerpos frente a *Toxoplasma gondii*, lo que indicaría que ya han arrojado ooquistes y contaminado el medio ambiente (Dubey y Frenkel, 1972; Dubey *et al.*, 1995). Además, en cualquier momento dado, aproximadamente 1% de los gatos se prevé que eliminará ooquistes, basado en el hecho que solo eliminan una vez ooquistes durante 1 semana en toda su vida, y esto es apoyado por estudios de evaluación de ooquistes en heces.

Muchos de los estudios detallados, han evaluado los ooquistes por microscopia, la cual tiene un umbral bien bajo (1,000 ooquistes por gramo de heces), a diferencia del

bioensayo en ratones que puede detectar bajas cantidades de ooquistes viables. Similar a la prueba de PCR, aunque esta última no detecta si los ooquiste son viables (Dubey *et al.*, 1995; Frenkel *et al.*, 1995).

Cuadro 1. Prevalencia Ooquistes de *T. gondii* en heces de gatos (1988-2008)*

País	Nº de gato	Método			n (%)	Referencia
		Micro	Bioensayo	PCR		
Argentina	50	Si	Si	No	1(2)	Venturini <i>et al.</i> , 1995
Austria	1368	Si	No	No	27(2)	Edelhofer y Aspöck, 1996
Brasil	237	Si	Si	Si	3(1,2)	Pena <i>et al.</i> , 2006
	327	Si	No	No	2(0,6)	Funada <i>et al.</i> , 2007
Colombia	143	Si	Si	No	0	Dubey <i>et al.</i> , 2006
Republica checa	390	Si	Si	No	0	Svobodova <i>et al.</i> , 1998
	620	Si	No	No	8(1,2)	Svobodova <i>et al.</i> , 1998
Francia	322	Si	No	No	0	Afonso <i>et al.</i> , 2006
Alemania	24106	Si	No	Si	26(0,11)	Schares <i>et al.</i> , 2008
Iran	50	Si	No	No	0	Hooshyar <i>et al.</i> , 2007
Israel	122	Si	No	Si	11(9)	Salant <i>et al.</i> , 2007
Japon	335	Si	Si	No	1(0,3)	Oikawa <i>et al.</i> , 1990
Mexico	200	Si	Si	No	14(7)	de Aluja y Aguilar., 1997
Panamá	383	ND	Si	No	2(0,5)	Frenkel <i>et al.</i> , 1995
China	26	Si	Si	No	0	Dubey <i>et al.</i> , 2007
España	592	Si	No	No	0	Montoya <i>et al.</i> , 2008
Estados Unidos	450	Si	No	No	3(0,7)	Rembiesa y Richardson, 2003
	263	Si	No	No	3(1,1)	Spain <i>et al.</i> , 2001
	34	Si	Si	No	0	de Camps <i>et al.</i> , 2008

*Adaptado de Dubey, 2010.

Se ha demostrado que tanto gatos jóvenes (< 6 meses) como viejos (> 6 meses) pueden encontrarse eliminando ooquistes, incluso se ha demostrado la excreción de estos en gatitos lactantes y gatos mayores de 13 años (Dubey y Carpenter, 1993). El número de ooquistes eliminados por gatos infectados naturalmente es en gran parte desconocido, hay pocos estudios que estiman la cantidad de estos, pero se estima que son aproximadamente 1,000 000 por gramo de heces (Schares *et al.*, 2008).

2.3.1.2. Reeliminación de ooquistes

El número de ooquistes eliminados en una segunda infección es generalmente inferior a la primera, varios factores pueden afectar a la excreción de ooquistes por los gatos, estos factores incluyen la edad del gato, la cepa *T. gondii*, el estado nutricional de

los gatos, y el número de quistes tisulares ingeridos (Dubey, 2010). Asimismo, infecciones concomitantes pueden generar una reelimación de ooquistes, como *Isospora felis*, el Virus de la inmunodeficiencia felina, y el tratamiento con corticosteroides (Dubey, 1973; Dubey y Frenkel, 1974).

Cuadro 2. Informes de ooquistes (probadas por bioensayos en ratones) eliminados por gatos según edad (Dubey, 2010)

País	N	Positivos	Anticuerpos <i>T. gondii</i>			Edad		Referencia
			Prueba	Neg	Pos	< 6 m	> 6 m	
Brasil	237	4	MAT	4	0	2	2	Pena <i>et al.</i> , 2006
Costa Rica	237	55	DT	35	20	24	31	Ruiz y Frenkel, 1998
Japón	446	4	DT	1	3	4	0	Ito <i>et al.</i> , 1974
EE.UU	1604	12	DT	5	7	6	6	Wallace, 1973
EE.UU	1000	7	DT	4	3	Desconocido		Dubey <i>et al.</i> , 1977

2.3.1.3. Resistencia de los ooquistes a los factores medioambientales

En un estudio realizado en Texas, los ooquistes sobrevivieron a temperaturas de 6 a 36°C, en las heces de gatos descubiertas (46 días) y enterradas (334 días) (Yilmaz y Hopkins, 1972). La baja humedad y las altas temperaturas son perjudiciales para los ooquistes, asimismo los ooquistes sin esporular son más susceptibles a cambios térmicos que los esporulados, además a 37°C por 24hrs son aniquilados (Dubey y Frenkel, 1976).

2.3.1.4. Diseminación de ooquistes

Se ha dicho que el gato es un animal limpio y entierra sus heces, hasta un punto esto es cierto, pero sería más correcto decir "esconde sus heces". Por otra parte, los ooquistes pueden ser llevados a la superficie por las moscas, cucarachas, las lombrices de tierra, y por las condiciones climáticas como la lluvia y la nieve. Estos ooquistes pueden terminar en el inodoro, o ser transportados por nuestro calzado. Se ha reportado que el escurrimiento del agua dulce es un potencial riesgo para la infección de *T. gondii* (Dubey, 2010).

Los animales de sangre fría, incluidos los peces, no son hospederos intermediarios de *T. gondii*, demostrado en numerosos experimentos que se realizaron

infectando varios invertebrados, incluyendo artrópodos, con taquizoítos, y aunque el parásito sobrevivió durante mucho tiempo, no había pruebas de su multiplicación en estos animales. Sin embargo, los moluscos pueden actuar como hospederos paranéticos de los ooquistes de *T. gondii* (Lindsay y Dubey, 2009).

La detección de ooquistes de *T. gondii* en muestras ambientales (suelo, agua de bebida) no ha tenido mucho éxito. En Canadá, en un brote de Toxoplasmosis vinculado al agua de bebida no se pudo detectar los ooquistes en las muestras de agua, pero si en el contenido rectal de un puma (*Felis concolor vancouverensis*) capturado y en una pila de materia fecal, ambos próximos al reservorio de agua. En Brasil, a partir de muestras tomadas de pequeños depósitos de agua, a través de filtración. Se pudo demostrar de manera indirecta la presencia de los ooquistes, ya que lo obtenido de la filtración fue dado a cerdos y pollos libres de *Toxoplasma gondii* los cuales desarrollaron la infección (Dubey, 2010).

2.3.2. Trasmisión de quistes tisulares

Los quistes tisulares son una parte esencial del ciclo de vida de *T. gondii*, estos representan la fase tisular del parásito en espera de ser ingerido por los animales, incluyendo los seres humanos. Weinman y Chandler sugirieron, por primera vez, que los seres humanos podrían infectarse tras la ingestión de carne mal cocida; y Desmonts *et al.* proporcionaron pruebas de ello, en un experimento con niños en un sanatorio de Paris (ya que se brindaba carne cruda con la creencia de que ayudaría a la recuperación de la tuberculosis). Entonces compararon las tasas de adquisición de la infección por *T. gondii* en los niños antes y después del ingreso al sanatorio. La velocidad de adquisición anual que era del 10% de anticuerpos de *T. gondii* se elevó al 50% después de la adición de dos porciones de carne de ganado apenas cocinadas o carne de caballo a la dieta diaria, y al 100% anual después de la adición de chuletas de cordero apenas cocidos. Dado que la prevalencia de *T. gondii* es mucho mayor en ovejas que en caballos o ganado esta ilustró la importancia de carnivorismo en la transmisión de *T. gondii*.

Quistes tisulares viables han sido reportados en animales infectados naturalmente, particularmente en cerdos y ovejas, y también en carne de animales silvestres. Estos quistes son destruidos a temperaturas mayores a 60°C y por procedimientos de curado. También se destruyen por congelación a -20°C, siendo

capaces de sobrevivir a almacenamiento a 4-6°C durante un máximo de 2 meses (Dubey, 2010)

2.3.3. Transmisión de taquizoítos

El taquizoíto es un organismo muy sensible que no puede sobrevivir fuera del hospedero y es por lo general destruido por las secreciones gástricas. Se puede transmitir vía transplacentaria y en accidentes de laboratorio (pueden ingresar por la córnea y la mucosa de la cavidad oral). Aunque taquizoítos de *T. gondii* se ha encontrado en el semen de cabras, ovejas, y en el hombre, no hay prácticamente ningún riesgo de transmisión venérea. También se ha encontrado en la saliva, pero no hay evidencia de su diseminación por los besos. Además, son encontrados en la leche, pero de igual modo hay poco peligro debido a que la leche genialmente se pasteuriza o incluso se hierve (Dubey, 2010).

2.4. Epidemiología

La toxoplasmosis es una zoonosis cosmopolita que posee una diversidad de hospederos, su importancia dependerá de la especie animal involucrada y el sistema de producción, las investigaciones relacionadas a su distribución indican prevalencias muy elevadas en diversas regiones, siendo las zona más afectadas son aquellas más cálidas y húmedas (Sobral *et al.*, 2005).

Dentro de sus hospedadores intermediarios de *T. gondii*, los herbívoros y omnívoros son epidemiológicamente los más eficaces, en todos ellos la ingestión de ooquistes representa la principal o única vía de infección. Tanto los quistes tisulares (bradizoítos) presentes en músculos y vísceras como los ooquistes fecales de félidos son importantes para mantener la infección en la naturaleza. Los taquizoítos desempeñan una función importante en la transmisión intrauterina de varias especies animales incluidas al hombre (Acha y Szyfres, 2003).

2.4.1. Parásito

El ooquiste constituye el eslabón más importante de la cadena epidemiológica de la toxoplasmosis (Dubey, 1994), estos son dispersados en el medio ambiente a través de los vientos, lluvias, aguas superficiales, pasturas naturales, forrajes cosechados como

heno, paja y granos que han sido contaminados por heces de felinos domésticos y silvestres que eliminan estos ooquistes durante 3 a 21 días post-infección (Lindsay *et al.*, 1997; Teneter *et al.*, 2000). Asimismo, en su propagación juegan un papel importante los vectores mecánicos como las cucarachas, moscas y gusanos de tierra.

El ooquiste tiene mayor capacidad infectiva que los bradizoítos y taquizoítos a través de la infección oral. Sin embargo, los taquizoítos desempeñan una función en la transmisión intrauterina de varias especies animales incluidas al hombre (Acha y Szyfres, 2003). Las formas de transmisión en la naturaleza pueden ser por ingestión de alimentos o agua contaminada con ooquistes esporulados (Dubey *et al.*, 1997; Dubey, 2004), ingestión de tejidos infectados con quistes (Teneter *et al.*, 2000) y taquizoítos por carnivorismo y necrofagia, siendo la fuente más importante de contagio para los felinos domésticos y silvestres las aves y roedores silvestres que han padecido la forma crónica de la enfermedad y poseen quistes a nivel tisular (Dubey, 1994; Venturini *et al.* 1997). Otras modalidades menores de transmisión incluyen a la transfusión de líquidos o trasplantes de órganos (Dubey y Lappin, 2000), y la ingestión de leche no pasteurizada o de huevos conteniendo taquizoítos (Dubey, 2004)

Los ooquiste de *Toxoplasma gondii* son altamente resistente a las condiciones medioambientales, incluyendo la congelación. Los ooquistes no son destruidos por tratamientos químicos y físicos que se aplican actualmente en plantas de tratamiento de agua, incluyendo cloración, tratamiento con ozono, y rayos ultravioleta (Dubey, 2010).

2.4.2. Hospedero

Teniendo en cuenta el grado de receptividad frente a la infección por el parásito, se puede establecer cuatro grupos de especies hospedadoras:

- Receptividad máxima: el gundi, el ratón, el conejo o el cobayo; en los que la infección experimental con dosis bajas del parásito puede provocar la muerte.
- Receptividad alta: la oveja, la cabra, el cerdo, el perro, el gato y también el hombre; en ellos la respuesta a la infección depende de la dosis infectante y el estado inmunitario del hospedador.

- Receptividad media: el hurón y la rata gris de laboratorio, en los animales jóvenes o inmunodeprimidos, se produce la síntesis de anticuerpos y la formación de quistes tisulares.
- Sin receptividad: en general invertebrados (helminths y artrópodos), donde el parásito no se multiplica sino que sólo sobrevive (Cordero del Campillo, 1973).

En los gatos y felinos silvestres, la forma de infección más frecuente es a través de la ingestión de tejidos infectados con quistes tisulares que contienen bradizoítos (Luzón *et al*, 1997). El comportamiento del gato condiciona la primoinfección, que ocurre mayormente entre los 6 meses y el año de edad, que es cuando comienzan a cazar y a comer ratones, ratas, pájaros o carne que contienen quistes tisulares de *T. gondii* (Flores, 1991). El gato con infección activa elimina millones de ooquistes durante cerca de 21 días originando una gran diseminación en el medio ambiente (Velasco- Castrejón *et al*, 1992; Acha y Szyfres, 2003), para luego adquirir inmunidad quedando como un portador sano. Aunque se considera que los gatos son inmunes a una nueva eliminación de ooquistes, pueden excretar unos cuantos después de un nuevo reto con cepas diferentes después de la primoinfección (Dubey, 1995).

2.4.3. Medio Ambiente

Las diferentes tasas de infección humana y animal obtenidas en diversos países del mundo se deben a diferentes factores como la localización geográfica, condiciones ambientales, hábitos culturales, tipo de fauna, grado de desarrollo del país e infraestructura hídrica y sanitaria (Mereiles, 2001). La toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria de carácter cosmopolita, habiendo sido diagnosticada mediante encuestas seroepidemiológicas en climas muy diversos. Las características del medio influyen en la prevalencia, siendo mayor en las regiones cálidas y/o húmedas, y más baja en climas secos y fríos (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

Los ooquistes no esporulados pueden sobrevivir a bajas temperaturas hasta por 3 meses, reteniendo su habilidad para convertirse en infecciosos, cuando se presentan las condiciones ambientales apropiadas (Lindsay *et al.*, 2002), pero la desecación prolongada por exposición a los rayos solares los destruye. Por otro lado, el instinto natural de los gatos para enterrar u ocultar sus heces proporciona un ambiente protegido

para la supervivencia del ooquiste (Dubey y Lappin, 2000). Cuando los ooquistes encuentran condiciones favorables en el ambiente externo (agua, terreno húmedo, temperatura de alrededor de 25° C y suficiente oxígeno) alcanzan su estado infectante en un lapso de 1-3 días. Esto ayuda a explicar la alta prevalencia de la toxoplasmosis en zonas templadas, tropicales y subtropicales (Leguía, 2002).

Los ooquistes esporulados sobreviven en el suelo por 18 meses o más, en especial si están cubiertos y lejos de la luz solar directa (Llop *et al.*, 2001). Se ha demostrado que vectores mecánicos como cochinillas, lombrices de tierra y moscas caseras contienen ooquistes; y que las cucarachas, caracoles (Pizzi, 1997; Dubey y Lappin, 2000), ectoparásitos, hematófagos o no, como pulgas, piojos y chinches son vectores mecánicos adicionales.

2.5. Factores de riesgo

2.5.1. Presencia de félidos domésticos y silvestres:

Los felinos eliminan los ooquistes muy resistentes a las condiciones medioambientales, por lo cual el gato es esencial en el ciclo biológico del parásito. En investigaciones realizadas la infección por *Toxoplasma gondii* prácticamente no existe en el hombre y en los animales, en zonas en las que no hay gatos (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). Además, en cualquier momento dado, aproximadamente 1% de los gatos se prevé que esta eliminando ooquistes, y solo eliminan una vez durante 1 semana en toda su vida.

2.5.2. Edad o grupo etario

La prevalencia del *Toxoplasma* se incrementa con la edad, existe mayor riesgo de exposición al parásito a medida que aumenta la edad en los animales (García *et al.*, 1990). Se observa el mismo comportamiento de riesgo de infección en humanos al aumentar la edad; pudiendo llegar hasta el 100% en zonas tropicales (Dubey, 1994); este fenómeno se produce debido a que los animales de mayor edad tienen mayor oportunidad de ponerse en contacto con el agente patógeno, y por ende presentar mayores niveles de anticuerpos. Otras investigaciones demuestran que la tasa de prevalencia se incrementa con la edad (Botero y Restrepo, 1998; Acha y Szyfres 2003).

2.5.3. Procedencia del animal.

Según la procedencia del animal, la seroprevalencia en animales de vida libre es baja, mientras que en animales que se alimentan de frutas o vegetales en el suelo y de restos de alimentos cerca de asentamientos humanos, donde los gatos domésticos son comunes, muestran prevalencias mayores. La transmisión de ooquistes de *T. gondii* aumenta en áreas de actividad humana debido a la presencia de felinos domésticos (Teneter et al., 2000).

2.5.4. Sexo

Miller et al. (2002), señalaron que mamíferos machos, en vida libre, son más propensos a la infección debido a que recorren largas distancias para establecer y defender su territorio. Sin embargo en diversos trabajos realizados por diversos autores en varias especies y en el humano; el género (macho y hembra) no representaría un factor de riesgo para contraer la toxoplasmosis.

2.5.5. Tipo de alimentación

Debido a la formación de quistes en el tejido nervioso y muscular, los carnívoros y omnívoros, en el transcurso de tiempo, son más propensos a estar expuestos a *Toxoplasma gondii* que los herbívoros, ya que es muy probablemente un evento mucho menos común para una herbívoro de ingerir ooquistes presentes en el suelo o agua, que para un omnívoro o carnívoro ingerir carne infectadas, con quistes tisulares, de presas o carroña (Dubey, 2010). Asimismo, es común encontrar mayor prevalencia de anticuerpos en carnívoros, seguido de omnívoros y en menor grado en herbívoros (Smith y Frenkel, 1995).

2.5.6. Presencia de roedores

Evidencias experimentales reportan que el toxoplasma puede ser mantenido en altos niveles en ratas silvestres sin la presencia simpátrica de gatos, debido a que en estos animales ocurre la transmisión congénita, pudiendo ser ingeridos por mamíferos carnívoros u omnívoros, representando así un potencial riesgo de infección (Webster, 1994).

2.7. Prevalencia de la Toxoplasmosis

A continuación se detalla las prevalencias reportadas en mamíferos del Orden Primates y Carnivora respectivamente.

Cuadro 3. Seroprevalencia mundial de *Toxoplasma gondii* en mamíferos silvestres del Orden Primates

Especie	País	Test	Nº	%	Punto de corte	Referencia
Cebidae						
<i>Cebus</i> sp.						
<i>C. libidinosus</i>	Brasil					
	Aracaju	MAT	14	21,4	25	Pimentel <i>et al.</i> , 2009
<i>C. xanthosternus</i>	Brasil					
	Aracaju	MAT	4	75	25	Pimentel <i>et al.</i> , 2009
<i>C. apella</i>	Brasil	MAT	14	17,5	64	Leite <i>et al.</i> , 2008
		IFI	14	20	16	Leite <i>et al.</i> , 2008
	Parana	MAT	43	71,6	NS	García <i>et al.</i> , 2005
	Peru	HAI	62	90,3	16	Muñoz <i>et al.</i> , 2005
	Colombia	HAI	10	0	64	Cadavid <i>et al.</i> , 1991
<i>C. albifrons</i>	Colombia	HAI	22	40,9	64	Cadavid <i>et al.</i> , 1991
<i>C. capucinus</i>	Colombia	HAI	15	13,3	64	Cadavid <i>et al.</i> , 1991
<i>Saimiri Sciureus</i>	Perú	HAI	128	0	16	Samamé <i>et al.</i> , 1995
	Israel	MAT	24	79,2	16	Salant <i>et al.</i> , 2009
Aotidae						
<i>Aotus</i> sp.	Perú	HAI	55	27,3	16	Samame <i>et al.</i> , 1995
		HAI	ND	40	16	Montoya <i>et al.</i> , 2000
Atelidae						
<i>Alouatta caraya</i>	Brasil					
	Paraná	MAT	17	28,4	ND	García <i>et al.</i> , 2005
Cercopithecidae						
<i>Macaca</i> sp.						
<i>M. mulatta</i>	China	MAT	1	0	20	Zhang <i>et al.</i> , 2000
<i>M. spicius</i>	China	MAT	2	50	20	Zhang <i>et al.</i> , 2000
Homonidae						
<i>Pan troglodytes</i>	China	MAT	1	0	20	Zhang <i>et al.</i> , 2000

*ND: No determinado, IFI: Reacción de inmunofluorescencia indirecta, MAT: Técnica de aglutinación modificada, HAI: Hemoaglutinación indirecta.

Cuadro 4: Seroprevalencia mundial de *Toxoplasma gondii* en mamíferos silvestres del Orden Carnivora.

Familia/ Especie	País	Test	N	%	Punto de corte	Referencia
Felidae						
<i>Panthera spp.</i>						
<i>P. tigris</i>	Brasil	MAT	2	100	20	Silva <i>et al.</i> , 2001
	Thailandia	LAT	18	27,8	64	Thiangtum <i>et al.</i> , 2006
	EE.UU	IFI	11	63,6	50	Spencer <i>et al.</i> , 2003
<i>P. Leo</i>	Botswana	IFI	53	92	20	Pezhorn <i>et al.</i> , 2002
	Brasil	MAT	27	51,8	20	Silva <i>et al.</i> , 2001
	Sudafrica	IFI	41	90,2	50	Cheadle <i>et al.</i> , 1999
		IFI	42	100	20	Pezhorn <i>et al.</i> , 2002
	Thailandia	LAT	7	14,3	64	Thiangtum <i>et al.</i> , 2006
	EEUU					
	Medioeste	MAT	22	54,5	25	de Camps <i>et al.</i> , 2008
	Varias áreas	IFI	10	80	50	Spencer <i>et al.</i> , 2003
	Zimbabwe	IFI	21	100	20	Pezhorn <i>et al.</i> , 2002
		MAT	26	92,3	25	Hove and Mukaratirwa, 2005
<i>P. onca</i>	Guiayana	MAT	1	100	40	Demar <i>et al.</i> , 2008
	Brasil	MAT	212	63,2	20	Silva <i>et al.</i> , 2001
	Thailandia	LAT	3	33,3	100	Thiangtum <i>et al.</i> , 2006
	EEUU					
	Varias áreas	IFI	2	100	50	Spencer <i>et al.</i> , 2003
	Medioeste	MAT	1	100	25	de Camps <i>et al.</i> , 2008
<i>P. pardus</i>	Brasil	MAT	3	100	20	Silva <i>et al.</i> , 2001
	Botswana	IFI	1	100	20	Penzhorn <i>et al.</i> , 2002
	Sur de africa	IFI	4	75	50	Cheadle <i>et al.</i> , 1999
	Thailandia	LAT	19	15,8	64	Thiangtum <i>et al.</i> , 2006
	EEUU					
	California	IFA	1	100	50	Spencer <i>et al.</i> , 2003
	Florida	ELISA	3	66,6	64	Lappin <i>et al.</i> , 1991
	Medioeste	MAT	1	100	25	de Camps <i>et al.</i> , 2008
<i>Felis spp.</i>						
<i>F. concolor</i>	Brasil	MAT	172	48,3	20	Silva <i>et al.</i> , 2001
	Aracaju	MAT	3	100	25	Pimentel <i>et al.</i> , 2009
	Canadá	MAT	23	34,8	64	Kikuchi <i>et al.</i> , 2004
		ELISA	15	7	ND	Phillippa <i>et al.</i> , 2004
	América	LAT	83	32,5	64	Kikuchi <i>et al.</i> , 2004
	México	LAT	12	16,7	64	Kikuchi <i>et al.</i> , 2004
	EEUU	LAT	320	19,1	64	Kikuchi <i>et al.</i> , 2004
	California	LAT	36	58	32	Paul-Murphy <i>et al.</i> , 1994
		IFI	42	25,5	50	Spencer <i>et al.</i> , 2003
		IFI	26	92,3	40	Miller <i>et al.</i> , 2008

Familia/ Especie	País	Test	N	%	Punto de corte	Referencia
<i>O. geoffroyi</i>	Bolivia	ELISA	8	25	ND	Fiorello <i>et al.</i> , 2006
	Brasil	MAT	12	75	20	Silva <i>et al.</i> , 2001
	Sur	MAT	1	100	ND	Ulmann <i>et al.</i> , 2010
<i>O. colocolo</i>	Brasil	MAT	8	12,5	20	Silva <i>et al.</i> , 2001
<i>Leopardus spp.</i>						
<i>L. pardalis</i>	Bolivia	ELISA	10	100	ND	Fiorello <i>et al.</i> , 2006
	Brasil	MAT	168	57,7	20	Silva <i>et al.</i> , 2001
	Sur	MAT	14	71,4	ND	Ulmann <i>et al.</i> , 2010
	EEUU					
	Alabama	IFA	1	100	50	Spencer <i>et al.</i> , 2003
<i>L. tigrinus</i>	Brasil	MAT	131	51,9	20	Silva <i>et al.</i> , 2001
<i>L. wiedii</i>	Brasil	MAT	63	55,5	25	Pimentel <i>et al.</i> , 2009
	Sur	MAT	17	58,8	ND	Ulmann <i>et al.</i> , 2010
<i>Herpailurus sp.</i>						
<i>H. yagouaroundi</i>	Brasil	MAT	991	45,9	20	Silva <i>et al.</i> , 2001b
	Sur	MAT	3	66,7	ND	Ulmann <i>et al.</i> , 2010
	EEUU					
	Florida	ELISA	1	100	64	Lappin <i>et al.</i> , 1991
<i>Procyonidae</i>						
<i>Nasua nasua</i>	Brasil					
	Aracaju	MAT	2	100	25	Pimentel <i>et al.</i> , 2009
<i>Mustelidae</i>						
<i>Eira barbara</i>	Brasil					
	Aracaju	MAT	1	100	25	Pimentel <i>et al.</i> , 2009
<i>Ursidae</i>						
<i>Ursus sp.</i>						
<i>U. americanus</i>	EE UU					
	Pennsylvania	MAT	665	80	25	Briscoe <i>et al.</i> , 1993
	California	HAI	147	27	64	Briscoe <i>et al.</i> , 1993
	Alaska	MAT	143	44,1	25	Zarnke <i>et al.</i> , 2000
<i>U. arctos</i>	EEUU					
	Alaska	MAT	887	24,8	25	Zarnke <i>et al.</i> , 1997
	Alaska	MAT	887	24,8	25	Zarnke <i>et al.</i> , 1997
<i>U. maritimus</i>	Svalbard	MAT	419	20,5	25	Oksanen <i>et al.</i> , 2009
	Groenlandia	MAT	108	50,9	25	Oksanen <i>et al.</i> , 2009
<i>Canidae</i>						
<i>Canis lupus</i>	EEUU					
	Alaska	MAT	125	9	25	Zarnke <i>et al.</i> , 2000

*Adaptado de Dubey 2010.

**ND: No determinado, IFI: Reacción de inmunofluorescencia indirecta, MAT: Técnica de aglutinación modificada, HAI: Hemoaglutinación indirecta.

2.6. Importancia en Salud Pública

La toxoplasmosis es una de las zoonosis parasitarias más comunes del hombre y de los animales de sangre caliente, ha sido encontrado en todo el mundo desde Alaska hasta Australia (Sobral *et al.*, 2005). Los exámenes serológicos indican que la mayor población de animales para consumo están infectados por *T. gondii* (Dubey, 2010), los brotes descritos en los últimos años, se han asociado a ingestión de carne cruda o poco cocida, leche cruda de cabra o exposición a heces de gato (Remington, 1984), transfusiones de sangre, transplantes de órganos y accidentes de laboratorio (Dubey y Lappin, 2000).

2.8. Patología

2.8.1. Patogenia

Inmediatamente después de la penetración de *Toxoplasma gondii* en una célula, este se separa del citoplasma celular por medio de una vacuola parasitófora, sintetizada por el protozoo y la célula anfitriona, en cuyo interior los taquizoítos se multiplican por endodiogenia formando pseudoquistes (Dubey *et al.*, 1998). Cuando el número de taquizoítos alojados en la vacuola parasitófora es muy elevado, la célula se desintegra, permitiendo su liberación al medio extracelular y la invasión de nuevas células. (Dubey, 2010).

En la parasitemia, la cual dura una semana, los taquizoítos libres o incluidos en macrófagos, linfocitos o neutrófilos son transportados por vía sanguínea o linfática, pudiendo alcanzar todos los tejidos (Dubey, 2010). Su multiplicación en los diferentes tejidos da lugar a pequeños focos de necrosis, rodeados de células inflamatorias, especialmente mononucleares (Dubey y Lappin, 2000). La fase aguda de la infección o reproducción rápida, es la que ocasiona las áreas de necrosis tisular con altos niveles de parasitemia que pueden terminar en la muerte del hospedero (Rojas, 2003).

En la segunda semana post infección, la multiplicación de taquizoítos disminuye de manera progresiva hasta cesar completamente (Dubey, 2010), formandose algunos quistes tisulares, los cuales permanecen latentes toda la vida del hospedero, a menos que se produzca una inmunodepresión (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

En hembras gestantes, los taquizoítos se multiplican en los cotiledones sin llegar a enquistarse, esto posiblemente debido a que el placentoma es un lugar inmunológicamente deprimido, donde el parásito no es afectado por la respuesta inmune humoral o celular, originando pequeños focos de necrosis. Una vez que el *T. gondii* atraviesa la barrera placentaria, las consecuencias dependerán de la capacidad del feto para iniciar una respuesta inmune y por lo tanto de la edad fetal, en el momento de la infección (Dubey, 2010).

2.8.2. Signos clínicos:

2.8.2.1. En animales domésticos

En el gato, la neumonía es la manifestación clínica más importante. Los síntomas más comunes son: depresión, anorexia, letargia, fiebre, tos, ictericia, emesis, diarrea, parálisis, estupor, hepatitis, necrosis pancreática, miositis, miocarditis, comportamiento agresivo y muerte súbita. La toxoplasmosis ocular en el gato es poco común. También puede presentarse de manera asintomática (Dubey, 2010).

En el perro, los signos clínicos de la toxoplasmosis son variables y dependen de la edad, de la presencia de infecciones concomitantes, de la severidad de la infección y de los órganos afectados. En neonatos, la toxoplasmosis generalmente es hiperaguda, diseminada y fatal. En canes jóvenes, los signos clínicos más frecuentes son gastrointestinales, respiratorios y neuromusculares, aunque también puede ocurrir una infección generalizada, la cual cursa con fiebre intermitente, disnea, diarrea y vómito (Alves y de Lima, 2004).

En canes adultos los signos clínicos son variables, siendo los más comunes: anorexia, letargia, fiebre, disnea por neumonía intersticial, hiperestesia debido a la miositis y diversos signos neurológicos cuando existe compromiso del sistema nervioso central (Alves y de Lima, 2004). Asimismo, casos de toxoplasmosis fatal pueden ocurrir en canes inmunosuprimidos debido a una infección concurrente con el virus del distemper canino (Dubey, 2004).

2.8.2.2. En animales silvestres

La patogenicidad de *T. gondii* es variada en las diversas especies silvestres, estos son más vulnerable. Se ha señalado casos de toxoplasmosis aguda fatal en marsupiales australianos, canguros (*Macropus fuliginosus*) y kaolas (*Phascolarctos cinereus*). Estos animales son extremadamente vulnerables cuando toman contacto por primera vez con *T. gondii*. No se ha señalado la razón del porque estos mamíferos son susceptibles. Probablemente, se deba a la distribución geográfica de Australia y la relativa reciente introducción de felinos en el continente.

Toxoplasmosis en félidos

Los gatos de Pallas (*Felis manul manul*) son altamente susceptibles a *T. gondii*, hasta el 50% de los felinos nacidos en cautiverio mueren a causa de una toxoplasmosis aguda, y se cree que esta alta susceptibilidad es por inmunodeficiencia. Al igual, que los gatos de pallas, los gatos de arena (*Felis margarita*), son susceptibles y la mayor transmisión de toxoplasma ocurre durante la gestación (Dubey, 2010)

Toxoplasmosis en cánidos.

Toxoplasmosis en carnívoros silvestres es clínica y epidemiológicamente importante porque la toxoplasmosis clínica en algunos de estos hospederos simula a la rabia. De igual modo que en los perros, los cánidos silvestres también son susceptibles a la infección por el virus del moquillo canino (CDV), que es inmunosupresora. La infección por *T. gondii* en algunos de estos hospederos (por ejemplo, los mapaches) es ecológicamente importante, porque los mapaches pueden actuar como centinelas. Estos mapaches ingieren casi cualquier cosa incluyendo la basura del suelo y las plantas, y por lo tanto son buenos indicadores de la infección por *T. gondii* en el medio ambiente (Dubey, 2010).

Toxoplasmosis en Úrsidos

Los osos son mamíferos omnívoros e infecciones en ellos indican contaminación acumulativa, con ooquistes y hospederos intermediarios, en el medio ambiente. No hay reportes confirmatorios sobre casos de toxoplasmosis clínica en osos, sin embargo se ha reportado en humanos casos de toxoplasmosis después del consumo

de carne de oso salvaje, por lo que se deduce que estos mamíferos presentan en su tejido muscular quistes tisulares de *T. gondii* (Dubey, 2010).

Toxoplasmosis en primates

Los primates del Nuevo Mundo son más susceptibles a la toxoplasmosis que los primates del viejo mundo debido a sus hábitos terrestres, especialmente los monos ardilla. Algunos de estos animales pueden morir de repente, sin síntomas obvios (Dubey, 2010). Pertz *et al.* (1997), describieron un episodio de toxoplasmosis fatal en cinco titís león dorado, vinculado al consumo un ratón salvaje. En todos los casos reportados en primates del Nuevo Mundo, los animales han muerto con pocos o ningún signo, y con una duración de entre 1 día a una semana. Los signos no son específicos, incluyen pirexia, alteraciones digestivas (anorexia, diarrea, emesis), dolor abdominal, letargia y somnolencia, debilidad progresiva y pérdida de peso en los casos en que el curso clínico es un poco más largo. Los primates con enfermedad pulmonar pueden presentar disnea. Los signos de encefalitis incluyen caminar en círculo, tomarse la cabeza con las manos, presionan la cabeza contra objetos, ataxia y convulsiones

2.9. Inmunidad

La respuesta humoral establecida frente a *Toxoplasma gondii* confiere sólo una protección parcial, siendo la respuesta celular la que origina un mayor grado de resistencia en el hospedador.

En la respuesta humoral de la fase aguda se origina un elevado nivel de anticuerpos IgG, descendiendo gradualmente hasta llegar a un título estable aproximadamente a los dos años (Benítez *et al.*, 1998). Las inmunoglobulinas IgM aparecen en la primera semana de la infección y desaparecen en uno o dos meses, aunque en muchos casos se ha detectado estos anticuerpos durante varios meses, incluso años (Gutiérrez *et al.*, 1997; Benítez *et al.*, 1998). En el caso de los anticuerpos IgE aparecen inmediatamente, en conjunto con las IgM, precediendo a la presentación de las IgA, y desaparecen como máximo a los cuatro meses (Bonhomme *et al.*, 1992).

Los anticuerpos IgG revelan el complejo patrón de antígenos, ya que reaccionan con muchos polipéptidos con un extenso rango molecular, especialmente de

30 a 60kDa; en cambio, los anticuerpos IgM reconocen pocos polipéptidos de 6, 25 y 35kDa, al igual que las inmunoglobulinas IgA que reaccionan con polipéptidos de 25, 35 y 50kDa (Sharma *et al.*, 1983). El antígeno SAG1, la mayor proteína de superficie del parásito, induce una respuesta poliisotípica de anticuerpos IgG, IgM, IgA e IgE (Santoro *et al.*, 1985). Los anticuerpos contra SAG1 inhiben la infección al bloquear la unión del parásito con los receptores de las células del hospedero (Kasper y Buzoni-Gatel, 1998).

La respuesta mediada por células es el mecanismo principal para el control de la infección en sujetos inmunocompetentes. Durante la respuesta aguda las células *natural killer* (NK) actúan como elementos esenciales en los mecanismos de defensa del hospedador. Después de varios días de infección se desarrollan las células T específicas contra el parásito, esenciales para la protección a largo plazo. Las células TCD4+ parecen actuar de forma sinérgica con las CD8+, que son esenciales para la protección del hospedador (Kasper y Buzoni-Gatel, 1998).

En la respuesta inmune es reconocido el papel clave desarrollado por las citoquinas y quinasas. Las citoquinas son glicoproteínas producidas por las células del sistema inmunitario que actúan en los procesos de inmunorregulación y defensa del hospedador. Ciertos estudios realizados en el modelo murino y en líneas celulares humanas han determinado que las citoquinas de tipo 1 (Th1), tales como interferón- γ (IFN- γ), interleuquinas 2 y 12 (IL2 y IL12) y factor de necrosis tumoral (TNF- α), median una respuesta inmunitaria protectora contra la infección por *Toxoplasma gondii* (Gross *et al.*, 1997).

El IFN- γ actúa de forma sinérgica con el TNF- α , estimulando la emisión de NO, que afecta al crecimiento del parásito por la inhibición de la cadena respiratoria mitocondrial que lleva a decrecer la tasa de replicación e induce la diferenciación de taquizoíto a bradizoíto (Gross *et al.*, 1997). Por otra parte las citoquinas de Tipo 2 (Th2), como la IL10, IL6 e IL4, son necesarias para regular una respuesta Th1 excesiva que puede ser nociva para el hospedador (Gazzinelli *et al.*, 1996).

Las proteínas quinasas son enzimas que catalizan la transferencia de un grupo fosfato a residuos de serina, treonina o tirosina en las cadenas polipeptídicas. La red de quinasas se encuentra involucrada en los mecanismos de transducción de señal en las

células eucariotas. La fosforilación de un residuo aminoácido origina un cambio conformacional que induce una activación o una inhibición de la función de la proteína (Gómez-Marín *et al.*, 1998).

Aproximadamente 2-3% de los genes de las células eucariotas codifican alguna quinasa. Las quinasas MAP (*Mitogen Activated Protein Kinase*) son quinasas que fosforilan residuos de serina y treonina. Actúan en cascada y activan proteínas fosfolipasas nucleares y citosólicas, siendo consideradas como componentes críticos de un control celular central que coordina las señales generadas por numerosos mediadores intra y extracelulares (Li *et al.*, 1993). *T. gondii* posee una fosfolipasa A2 (PLA2) específica cuya actividad se ve aumentada durante la infección. Se ha observado la participación de las quinasas MAP en los mecanismos de transducción de señal de la infección parasitaria. El IFN- γ afecta directamente a la actividad de las quinasas MAP del parásito disminuyéndola, por lo que confiere una señal protectora frente a *T.gondii* (Gómez-Marín *et al.*, 1998)

2.10. Diagnóstico

El diagnóstico clínico es difícil de establecer dada la ausencia o poca especificidad de la sintomatología, por lo que el diagnóstico se fundamenta en la investigación de la inmunidad humoral y en la detección del parásito.

2.10.1. Diagnóstico serológico

2.10.1.1. Prueba de Sabin y Feldman o Dye test (RSF)

La reacción de Sabin y Feldman, mide preferentemente anticuerpos de tipo IgG, es una prueba serológica altamente específica (100 %) y sensible (99%) (Borbolla *et al.*, 2005; Ovalle *et al.*, 2000). En esta prueba, los taquizoítos vivos se incuban con el complemento, el suero de prueba y un colorante fuertemente alcalino de azul de metileno (pH: 11) a 37° C durante 1 hora. La técnica se fundamenta en la lisis y destrucción de la membrana citoplasmática que producen los anticuerpos y el complemento a los taquizoítos, como resultado de ello los taquizoítos afectadas no incorporan el azul de metileno y aparecen como "Fantasmas", por otra parte en la reacción negativa, los taquizoítos vivos se tiñen intensamente de azul con el colorante

vital (Dubey, 2010; Cordero del Campillo *et al.*, 1999). Para tal efecto se utiliza taquizoítos virulentos como antígeno, el cual es expuesto a diluciones de suero y un factor accesorio obtenido de suero humano libre de *Toxoplasma gondii*. El inconveniente de la técnica es el costo del suero humano y la exigencia de trabajar con parásitos vivos (Ovalle *et al.*, 2000).

2.10.1.2. Hemaglutinación indirecta (HAI)

La técnica de hemaglutinación indirecta fue desarrollada por Borden en 1951, y por primera vez utilizada por Jacobs y Lundé en 1957, esta prueba serológica se utiliza rutinariamente en muchos laboratorios, teniendo un sensibilidad de 81.6% y una especificidad de 97.1% demostrada en porcinos (Jones *et al.*, 1986). Detecta anticuerpos IgG y se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* de producir aglutinación en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del parásito (Weiner lab, 2000). Asimismo, la presencia de anticuerpos heterófilos como la aparición de IgM, características del periodo agudo de la parasitosis, se investigan empleando tratamiento con 2-mercaptoetanol (2-ME), en condiciones de infección aguda, el patrón de aglutinación cae varios títulos, denotando la presencia de estos anticuerpos de fase aguda y proporcionando la diferenciación entre infecciones agudas y crónicas (Mereiles, 2001).

2.10.1.3. Inmunofluorescencia indirecta (IFI)

La prueba serológica de Inmunofluorescencia fue introducida por Goldman en 1956, posee una alta sensibilidad (99%) y especificidad (100%), y utiliza antígenos muertos estables; es por eso que viene reemplazando a la técnica de Sabin-Feldman que a pesar de obtener resultados equivalente a IFI, ésta requiere manipulación de parásitos vivos y crianza de ratones (Ovalle, 2000; Acha y Szyfres, 2003). Una desventaja de esta prueba es el uso de microscopio de fluorescencia, inaccesible para muchos investigadores (Botero y Restrepo, 1998). En esta prueba se utiliza como antígeno los taquizoítos del *Toxoplasma gondii* previamente formalizados y fijados en portaobjetos de inmunofluorescencia que posteriormente se enfrentan a diluciones del suero problema. El fundamento de la prueba se basa en que ciertas sustancias denominadas fluorocromos (Isotiocianato de Fluoresceína), se conjugan con los anticuerpos, y al ser expuestos a una luz ultravioleta, emiten un haz de luz de mayor longitud de onda, que se

visualiza con un microscopio de fluorescencia, permitiendo detectar la presencia de anticuerpos específicos en una muestra problema (Venturini *et al.*, 2001).

2.10.1.3. Ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas (ELISA)

La prueba de ELISA para anticuerpos específicos IgM tiene una sensibilidad de 97% y una especificidad de 100% (Freij y Server, 1991). Los títulos obtenidos con la prueba de ELISA para anticuerpos específicos IgG correlacionan bien con los obtenidos por RSF o por la reacción de inmunofluorescencia indirecta (Freij y Server, 1991). El fundamento de la técnica de ELISA es semejante a la prueba de inmunofluorescencia indirecta. No obstante, en lugar de sustancias fluorescentes se utiliza una enzima unida de manera estable a una antiglobulina de la especie investigada. Las técnicas inmunoenzimáticas permiten la detección de anticuerpos en un medio complejo y normalmente se utilizan tres principios técnicos para la detección de estos anticuerpos: la inmunocompetencia, el método indirecto y la inmunocaptura (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003). Asimismo, la técnica de ELISA permite detectar casos subclínicos de toxoplasmosis (Lappin *et al.*, 1991)

2.10.1.4. Técnica de aglutinación modificada (MAT)

La técnica de aglutinación modificada fue por Dubey y Desmonts en 1987, esta prueba detecta anticuerpos de IgG, y posee una sensibilidad de 82,9% y especificidad de 90,92% (Dubey *et al.*, 1995). El MAT ha sido mejorado en sensibilidad y especificidad para distinguir la infección crónica y aguda en humanos y gatos para detectar los trofozoitos usando mezclas de acetona y formalina respectivamente. Los anticuerpos para antígenos mezclados con acetona son elevados solamente durante infecciones agudas (< de 3 meses), mientras los anticuerpos para antígenos mezclados con formalina podrían detectar infecciones que permanecen por varios años (Dubey y Lappin, 2000).

2.11. Tratamiento

Los antibióticos utilizados son activos solo contra las formas de proliferación rápida (taquizoítos), estos no consiguen eliminar los quistes tisulares latentes (bradizoítos) es por ello que la infección por *Toxoplasma gondii* no puede ser erradicada

(Botero y Restrepo, 1998). El tratamiento está basada en el uso de inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos, como la combinación de sulfadiazina y pirimetamina, no obstante esta combinación es contraindicada durante la gestación por su efecto teratogénico (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

Entre los fármacos disponibles, la clindamicina es el medicamento de elección para el tratamiento de la toxoplasmosis aguda en perros y gatos, debido a que atraviesa la barrera hematoencefálica, favoreciendo el tratamiento de la encefalitis y su buena absorción intestinal (Dubey y Lappin, 2000; Rojas, 2003). La dosis de la clindamicina varía a razón de 10 – 20 mg/kg/día por un periodo de 3 – 6 semanas (Greene, 2000). Por otro lado, el tratamiento en la ganadería no es recomendable por ser impracticable. Pues la quimioterapia requiere de prolongada administración y vigilancia médica (Rojas, 2003).

Los medicamentos más utilizados en el hombre son: espiramicina, pirimetamina, trimetoprim, sulfonamidas (Sulfadiazina, sulfametoxazol y sulfadoxina), dapsona y ácido fólico. La combinación de dos drogas es muy utilizada por su acción sinérgica y con la administración adicional de ácido fólico (Botero y Restrepo, 1998; Llop *et al.*, 2001).

2.12. Prevención y control

Considerando que la toxoplasmosis es una de las zoonosis de mayor distribución mundial, las medidas de prevención se deben enfatizar principalmente al humano, especialmente en las embarazadas y personas inmunodeprimidas; y a través de tales medidas también proteger a los animales:

a) En el hospedero definitivo:

- No alimentar con carnes crudas o mal cocidas (Rojas, 2003).
- La castración y buena alimentación de los gatos, les promueve hábitos sedentarios y una menor tendencia a la caza y consumo de roedores y cucarachas (Rojas, 2003).
- Limpiar diariamente los cajones de aseo de los gatos utilizando lejía (una parte de lejía en 4 partes de agua) puesto que los ooquistes pueden esporular hasta en 24 horas tras su exposición al aire (Rojas, 2003).

- La monensina, es eficaz para disminuir la eliminación de ooquistes cuando se añade al alimento seco para gatos, en el transcurso de uno o dos días después de la infección. No evita que los felinos infectados desarrollen inmunidad contra la eliminación de ooquistes en una exposición subsecuente a *Toxoplasma gondii* (Greene, 2000).

b) En el hospedero intermediario:

En el ganado:

- Evitar el ingreso de felinos domésticos o silvestres en las áreas de almacenamiento del alimento para los animales, así mismo eliminar cucarachas y moscas que pueden cumplir la función de vectores.
- Eliminar los restos de placenta y los fetos abortados para minimizar la propagación del parásito.
- Realizar programas de desratización para controlar la proliferación de roedores (Cordero del Campillo et al., 1999).
- Rotación de las canchas de parición, favoreciendo la exposición de hembras jóvenes no empadradas, a pastizales infectados con el fin de que adquieran inmunidad (Leguía y Casas, 1999).
- Vacunar con parásitos vivos modificados, a las ovejas antes de la preñez para evitar infecciones congénitas (Acha y Szyfres, 2003). Últimamente en Nueva Zelanda se ha desarrollado una vacuna (Toxo Vac) para prevenir abortos en ovejas, consistente en una cepa de *T. gondii* que no forma bradizoítos en la oveja ni ooquistes en los gatos (Barriga, 2002).

En animales de Zoológico:

- Brindarles carne congelada a temperatura de -20°C para destruir los quistes tisulares posiblemente presentes.
- Realizar programas de desratización periódicamente para evitar la sobrepoblación de roedores, así mismo realizar el control de los gatos asilvestrados presentes en el zoológico.

En el humano:

- Educar a las personas, informándolas de las diferentes fuentes de contagio de *Toxoplasma gondii*, así como de las precauciones que deben tomar si tienen gatos, en la cocción adecuada de las carnes, en la ingestión de derivados de lácteos y leche pasteurizada, en el tratamiento del agua y el lavado de frutas y verduras. (Acha y Szyfres, 2003).
- Las mujeres deben realizar la prueba diagnóstica antes de la gestación, y durante la misma se deben extremar las medidas preventivas.
- Niños de madres con alteración de títulos de anticuerpos durante la gestación, deben de ser controlados en su desarrollo psicomotriz (Rojas, 2003).
- Educar a la población, orientándolas sobre medidas de protección adecuadas, por ejemplo, el uso de guantes durante labores de jardinería, donde se requiera mover tierra que pueda estar contaminada con heces de gatos; a las amas de casa se les aconseja lavarse las manos luego de manipular carne cruda (Cordero del Campillo et al., 1999).
- No consumir carne inadecuadamente cocida principalmente de cerdo u ovino, refrigerar la carne a 12°C por 24 horas y/o cocinar la carne a temperaturas de 66°C, y no lavarla con agua no tratada (Dubey y Jones, 2008).

c) En el medio ambiente

- Eliminar mediante lavados con ácido acético diluido los posibles ooquistes presentes en las verduras y/o frutas contaminadas.
- Eliminar el excremento del gato en una bolsa plástica y colocarla en la basura, evitando que sean diseminados por medio de las moscas, el agua, las lombrices y los escarabajos.
- En los zoológicos es recomendable realizar programas de desratización, control de felinos domésticos y vectores mecánicos del parásito como insectos: cucarachas, moscas, escarabajos, etc (Dubey, 2010)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar y tiempo

El presente estudio se realizó en el Zoológico del Patronato del Parque de las Leyendas, ubicado en el distrito de San Miguel a 12°05'11" de latitud sur, 77°05'05" de latitud oeste y a 50 m.s.n.m., durante los meses de enero de 2013 y marzo de 2014. El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Sección Parasitología de la FMV-UNMSM, ubicado en el distrito de San Borja, Lima.

3.2. Animales silvestres en estudio

El cuadro 1, muestra las especies de animales silvestres muestreados en el Zoológico del Patronato del Parque de las Leyendas. .

3.2.1. Toma de muestra de animales silvestres

Se realizó la contención de los animales mediante el uso de redes y/o sedación (xilacina y ketamina). Las muestras de sangre fueron obtenidas a través de la punción de la vena braquial, yugular, o femoral, usando vacutainers estériles, siendo debidamente identificados y trasladados con refrigerantes al Laboratorio de Parasitología de la FMV-UNMSM para su procesamiento y análisis.

Cuadro 5: Relación de mamíferos silvestres, pertenecientes al Orden Carnivora y Primates, sujetos al control sanitario anual realizado por el Parque Zoológico, Lima 2013-2014.

Orden Carnivora		Orden Primates	
Familia	N	Familia	N
<i>Canidae</i>		<i>Atelidae</i>	
<i>Lycalopex culpaeus</i>	3	<i>Lagothrix lagotricha</i>	3
<i>Ursidae</i>		<i>Ateles belzebuth</i>	2
<i>Tremarctos ornatus</i>	6	<i>Pitheciidae</i>	
<i>Ursus arctos arctos</i>	2	<i>Pithecia monachus</i>	8
<i>Ursus americanus</i>	1	<i>Cebidae</i>	
<i>Procyonidae</i>		<i>Cebus apella</i>	22
<i>Nasua nasua</i>	4	<i>Cebus albifrons</i>	5
<i>Potos flavus</i>	5	<i>Aotidae</i>	
<i>Mustelidae</i>		<i>Aotus nancymae</i>	6
<i>Eira barbara</i>	2	<i>Cercopithecidae</i>	
<i>Felidae</i>		<i>Macaca mulatta</i>	1
<i>Panthera tigris</i>	2	<i>Papio hamadryas</i>	4
<i>Panthera onca</i>	9	<i>Homonidae</i>	
<i>Panthera leo</i>	5	<i>Pan troglodytes</i>	1
<i>Leopardus tigrinus</i>	6		
<i>Leopardus colocolo</i>	2		
<i>Leopardus pardalis</i>	1		
<i>Puma concolor</i>	1		
Total	49	Total	52

3.3. Roedores (*Rattus* sp.) y felinos domésticos en estudio

Se trabajó con ratas y gatos que deambulan en libertad en las diferentes áreas del parque zoológico (zonas de costa, sierra y selva), muestreándose un total de 87 ratas y 18 felinos. En este caso no se estableció un tamaño muestral, debido a la dificultad para la captura de roedores y gatos, estos resultados fueron considerados como datos accesorios.

3.3.1. Captura de roedores y obtención de muestras sanguíneas

Se realizó la captura mediante el uso de trampas tipo Tomahawk de captura viva (8 x 9 x 23 cm), las cuales fueron colocadas por un periodo de tres meses, en lugares estratégicos y debidamente identificadas, mediante la utilización de un GPS a una distancia no mayor de cinco metros en forma radial y revisadas al día siguiente de su colocación. Los roedores fueron anestesiados mediante la inhalación de cloroformo seguido de Ketamina (100mg/kg). La sangre se obtuvo mediante la punción intracardiaca y posteriormente los roedores fueron sacrificados mediante sobredosis de pentobarbital sódico vía intraperitoneal. La sangre obtenida fue colectada en crioviales y transportada al Laboratorio de Parasitología de la FMV-UNMSM para su almacenamiento y posterior análisis serológico. Durante la manipulación de los roedores se siguieron los estándares de bioseguridad y normas de procesamiento según los protocolos del Centro de Enfermedades Infecciosas y Prevención de Atlanta (Mills *et al.*, 1998).

3.3.2. Captura de felinos domésticos y obtención de muestras sanguíneas

Los animales fueron capturados mediante el uso de trampas caseras tipo Tomahawk y posteriormente tranquilizados (Diazepam) y anestesiados (Ketamina). Las muestras sanguíneas se obtuvieron mediante punción de la vena cefálica. Los felinos domésticos estudiados fueron tratados bajo normas y principios de guía internacional basada en principios para la investigación biomédica que involucra animales (Bankowski y Howard-Jones, 1986).

3.4. Análisis serológico

Para la determinación de anticuerpos contra *T. gondii* se utilizó la prueba de Hemaglutinación Indirecta (HAI), la cual posee un sensibilidad de 81.6% y una especificidad de 97.1% demostrada en porcinos (Jones *et al*, 1986). La prueba se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* de producir aglutinación en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del parásito (Weiner lab, 2000). Se prepararon diluciones de la muestra serica de 1:16 a 1:2048; considerándose como positivo títulos mayores 1/16. A su vez, se determinó anticuerpos (IgM) mediante el uso del 2-Mercaptoetanol para determinar si el tipo de infección es aguda en los animales seropositivos, observándose que el patrón de aglutinación cae al menos dos títulos, denotando la presencia de estos anticuerpos de fase aguda (Mereiles, 2001).

3.5. Encuesta epidemiológica

A cada animal silvestre evaluado se aplicó una encuesta donde se obtuvo información concerniente al tipo de especie, sexo, origen (nacido en la institución, externo), tiempo en la institución (≥ 11 , 6-10, 1-5 años), tipo de alimentación (Carnívoro: consumo de carne cruda fresca o congelada, o con actividad depredadora-roedores, etc. Omnívoro: consumo de carne y verduras), convivencia con felinos domésticos, cohabitación con roedores. Asimismo se obtuvo información concerniente de cada roedor (parámetros morfométricos, edad estimada, sexo y peso) y felino doméstico (edad estimada y sexo).

3.6. Análisis estadístico

Con la información obtenida se creó una base de datos, donde fueron adicionados los resultados serológicos con el objeto de interrelacionarlos y validarlos estadística y epidemiológicamente. Se utilizó, además, las pruebas estadísticas de Chi cuadrado, Prevalencia (P) y Odds Ratio (OR).

3.7. Consideraciones éticas

Se contempló las normas éticas para la investigación señaladas por el Comité de Ética para Uso de Animales de Experimentación de la FMV-UNMSM.

IV. RESULTADOS

La seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en mamíferos silvestres del Orden Carnivora y Primates mantenidos en cautiverio, mediante la prueba de hemaglutinación indirecta (HAI), fue de 87,8% (43/49) y 80,8% (42/52) al 95% de confianza respectivamente (Cuadro 6 y 7). Asimismo, se observa que al interrelacionar las variables independientes (sexo, origen, etc.), como posibles factores de riesgo y la variable dependiente (seroprevalencia de *T. gondii*), se muestra diferencia significativa ($p<0.05$) en la variable alimentación del Orden Primates (Cuadro 7), representando el ser omnívoro como mayor riesgo (OR= 40,9) de adquirir la infección por *T. gondii*.

En el Cuadro 8, observamos la distribución de anticuerpos totales y anticuerpos IgM anti-*T. gondii* de los animales estudiados, siendo el porcentaje general de positividad para anticuerpos totales de 87,8% (43/49) en el Orden Carnivora, y 80,8% (42/52) en el Orden Primates, presentado 100% para las familias *Ursidae*, *Mustelidae*, *Aotidae* y *Homonidae*. En tanto para los anticuerpos de tipo IgM fue de 44,2% (19/43) y 21,4% (9/42) para Carnívoros y Primates respectivamente, encontrándose mayor porcentaje (100%) en *Pitheciidae* y *Cercopitheciidae*. El total de la media geométrica del título (MGT) fue de 445, siendo de similar distribución para ambas ordenes, pero más elevada en la familia *Atelidae*.

La frecuencia de títulos de anticuerpos totales para cada Orden se detalla en el Cuadro 9, siendo de mayor porcentaje el de 1:2048 para ambas Ordenes, de 34,9% (15/49) para Carnivora y 40,5% (17/52) para Primates.

Cuadro 6. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* y su asociacion a factores de riesgo en mamiferos del Orden Carnivora mantenidos en cautiverio en un Zoológico de Lima, Perú, 2014

Variables	N	Positivos ≥ 1/16	%	OR	P
Sexo					
Hembra	29	26	89,7 ^a	1,2	0,863
Macho	20	17	85 ^a	1	-
Origen					
Nacidos en cautiverio	9	9	100 ^a	1,4	0,999
Externos*	40	34	85 ^a	1	-
Tiempo en la institución (años)					
≥11	27	24	88,9 ^a	3	0,318
6-10	6	6	100 ^a	2,1	0,999
1-5	16	13	81,3 ^a	1	-
Tipo de alimentación					
Carnívoro	26	24	92,3 ^a	2,6	0,368
Omnívoro	23	19	82,6 ^a	1	-
TOTAL	49	43	87,8		

*Externos: Animales abandonados, decomisados y donados.

**Letras diferentes dentro de cada variable indican asociación significativa (p<0.05).

Cuadro 7. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* y su asociacion a factores de riesgo en mamiferos del Orden Primates mantenidos en cautiverio en un Zoológico de Lima, Perú, 2014.

Variables	N	Positivos ≥ 1/16	%	OR	P
Sexo					
Hembra	28	24	85,7 ^a	3,1	0,261
Macho	24	18	75 ^a	1	-
Origen					
Nacidos en cautiverio	25	19	76 ^a	1	-
Externos*	27	23	85,2 ^a	3,4	0,236
Tiempo en la institución (años)					
≥11	25	22	88 ^a	0,5	0,517
6-10	17	14	82,4 ^a	1,3	0,998
1-5	10	6	60 ^a	1	-
Tipo de alimentación					
Omnívoro	33	31	93,9 ^a	40,9	0,004
Frugívoro	19	11	57,9 ^b	1	-
TOTAL	52	42	80,8		

*Externos: Animales abandonados, decomisados y donados.

**Letras diferentes dentro de cada variable indican asociación significativa (p<0.05).

Cuadro 8. Distribución de anticuerpos totales y anticuerpos IgM anti *T. gondii* en mamíferos del Orden Carnivora y Primates mantenidos en cautiverio en un Zoológico de Lima, 2014

Orden/Especie	Anticuerpos Totales		IgM		MGT
	Positivos /Examinados	%	Positivos /Examinados	%	
Carnivora	43/49	87,8	19/43	44,2	389
<i>Felidae</i>	24/26	92,3	12/24	50	402
<i>Ursidae</i>	9/9	100	3/9	33,3	597
<i>Mustelidae</i>	2/2	100	0/2	0	91
<i>Procyonidae</i>	8/9	88,9	4/8	50	279
<i>Canidae</i>	0/3	0	-	-	-
Primates	42/52	80,8	9/42	21,4	512
<i>Cebidae</i>	26/27	96,3	1/26	3,9	867
<i>Aotidae</i>	6/6	100	2/6	33,3	51
<i>Atelidae</i>	4/5	80	1/4	25	1722
<i>Pitheciidae</i>	1/8	12,5	1/1	100	64
<i>Homonidae</i>	1/1	100	0/1	0	512
<i>Cercopithecidae</i>	4/5	80	4/4	100	304
TOTAL	85/101	84,2	28/85	32,9	445

*MGT: Media geométrica de los títulos

Cuadro 9. Frecuencia de títulos de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en mamíferos del Orden Carnivora y Primates mantenidos en cautiverio en un Zoológico de Lima, 2014

Título de anticuerpos	Carnivora		Primates	
	N	%	N	%
1:16	2	4,7	2	4,8
1:32	3	7,0	3	7,1
1:64	4	9,3	2	4,8
1:128	6	14,0	4	9,5
1:256	5	11,6	5	11,9
1:512	7	16,3	6	14,3
1:1024	1	2,3	3	7,1
1:2048	15	34,9	17	40,5
Total	43	100	42	100

Asimismo, el 25,29% (22/87) de los roedores (*Rattus rattus* y *R. norvegicus*) capturados fueron positivos a *T. gondii* mediante la prueba de HAI (Cuadro 10). Igualmente el 77,78% (14/18) de felinos domésticos mostraron anticuerpos anti-*T. gondii* (Cuadro 11).

Cuadro 10. Frecuencia de anticuerpos anti- *Toxoplasma gondii* en roedores del genero *Rattus* sp. procedentes de un área de tenencia de animales silvestres, Lima, 2014.

	Animales	
	Positivos/ Examinados	%
<i>Rattus</i> sp.		
<i>R. rattus</i>	11/36	30,7
<i>R. norvegicus</i>	11/51	21,6
Total	22/87	25,3

Cuadro 11. Frecuencia de anticuerpos anti- *Toxoplasma gondii* en felinos domésticos procedentes de un área de tenencia de animales silvestres, Lima, 2014

	Animales	
	Positivos/ Examinados	%
<i>Felis scatus</i>		
Juveniles	6/8	75
Adultos	8/10	80
Total	18	77,8

V. DISCUSIÓN

La toxoplasmosis es una de las enfermedades parasitarias más comunes en animales silvestres mantenidos en cautiverio, es así que diversos estudios serológicos han demostrado altas prevalencias de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en zoológicos. Asimismo, ciertas especies de mamíferos silvestres (Marsupiales australianos, primates del nuevo mundo, lémures, etc.) presentan mayor susceptibilidad y pueden cursar con una toxoplasmosis aguda fatal (Dubey, 2010).

En el cuadro 6, la seroprevalencia de *T. gondii* en mamíferos del Orden Carnivora fue de 87,8%, similar a lo observado por Zhang *et al.* (2000), Silva *et al.* (2001), Sedlak y Bártoová (2006) y Sobrino *et al.* (2007) en los Zoológicos de Shanghai (69,4%), Brasil (54,6%), Checoslovaquia (89,7%) y España (67,4%) respectivamente. Las razones de hallar una seroprevalencia alta, se deba posiblemente a diversos factores, entre ellos al tipo de alimentación, si bien esta es controlada y está constituida solamente a base de carne (*felidae*) o mixta: carne, frutas, huevo y vegetales (*Ursidae*, *Mustelidae*, *Procyonidae*, *Canidae*); existe la posibilidad de que la carne que se brinda, se encuentre infectada con quistes tisulares, que son formas más frecuentes y probables de contagio en cautiverio (Dubey, 2010), además que esta carne es congelada a -10°C por 3 a 4 días generalmente, lo que permitiría la sobrevivencia de los quistes presentes (Teneter *et al.*, 2000); es así que en el presente estudio se han observado frecuencias de hasta 100% y clínicamente inaparentes en mamíferos de las familias *Mustelidae* y *Ursidae* (Cuadro 8).

En relación a los posibles factores de riesgo asociados a la seroprevalencia de *T. gondii* en mamíferos del Orden Carnivora, la variable sexo (cuadro 6) no mostro diferencia significativa ($p>0.05$), lo que sugiere que tanto machos como hembras están igualmente expuestos a la infección. Sin embargo, Miller *et al.* (2002) señalaron que mamíferos machos, en vida libre, son más propensos a la infección debido a que recorren largas distancias para establecer y defender su territorio, contrario a lo que sucedería en animales mantenidos en cautiverio, debido a que su comportamiento varía para adaptarse a su nuevo hábitat artificial.

Según el origen de los carnívoros muestreados (cuadros 6), se encuentran animales catalogados como “externos”, considerándose ahí los animales abandonados, donados por otras instituciones, y los que están en custodia en el zoológico, debido a que fueron decomisados por el SERNANP (Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado) o la policía ecológica a traficantes de animales silvestres. Tanto estos animales como los nacidos en cautiverio no mostraron diferencia significativa en relación a su seroprevalencia ($p>0.05$), similar a lo descrito por Silva *et al.* (2007), quienes evaluaron 865 felinos neotropicales de 75 zoológicos y 15 centros de crianza de Brasil. Esto posiblemente se deba a la gran cantidad de roedores y gatos presentes en el zoológico, los cuales merodean los alrededores e incluso el hábitat del animal, constituyendo un factor importante de contagio ya sea por la posible infección con ooquistes o por la depredación de roedores (Webster, 1994; Dubey 2010).

La variable tiempo en la institución (Cuadro 6), mostro prevalencias de distribución similar y sin diferencia significativa ($p>0.05$). Es razonable suponer que a mayor tiempo, mayor es la posibilidad de exposición a la infección por *T. gondii*. Sin embargo, la posibilidad de que la variable tiempo intervenga en las prevalencias de *T. gondii* es poco significativa, en animales de zoológico que ya pertenecen a la colección (Silva *et al.*, 2007), ya que el parque cuenta con animales de una edad promedio de 11 años, e incluso existen mamíferos que llegan a los 30 años.

Con respecto a la variable tipo de alimentación (cuadro 6), animales carnívoros y omnívoros presentaron prevalencias similares superiores al 80%, sin evidenciar diferencia significativa ($p>0.05$). Esto se explica por el consumo constante de carne

cruda, posiblemente infectada con quistes tisulares de *T. gondii*, ya que constituye el medio de transmisión más eficaz y común de esta parasitosis (Dubey, 2010). Además, los felinos del Parque zoológico son alimentados con carne fresca sin congelar de animales del mismo centro (patos, huanganas, sajinos, etc.), como método de enriquecimiento alimenticio. Así mismo, existe la posibilidad que muchos de estos mamíferos cazen los roedores que merodean los alrededores e incluso su hábitat.

En el cuadro 7, la seroprevalencia de *T. gondii* en mamíferos del Orden Primates fue de 80,8%, superior a lo observado por Zhang *et al.* (2000), Sedlak y Bartová (2006) y Hamad *et al.* (2010), en los zoológicos de Shanghai (25%), Checoslovaquia (45,5%) y Brasil (57,7) respectivamente. Sin embargo esta seroprevalencia se asemeja a la hallada por Muñoz *et al.* (2005) en el Patronato del Parque de las leyendas en primates del género *Cebus apella* (92,3%). Esta alta seroprevalencia se podría argumentar por el hábito que tienen ciertos primates no humanos de ingerir insectos como cucarachas, escarabajos, tenebrios que pueden actuar como hospederos de transporte de los ooquistes de *T. gondii* (Dubey y Lindsay, 2004).

En relación a la variable sexo (cuadro 7), no se evidencio diferencia significativa ($p>0.05$), por lo que machos y hembras están expuestos a las mismas condiciones medioambientales indistintamente de su sexo. Este resultado es similar a lo descrito por Muñoz *et al.* (2005), quienes evaluaron solo primates de la familia *Cebidae*, en contraste al presente trabajo que evaluó casi la totalidad de familias de primates existentes en el parque zoológico (Cuadro 8).

Con respecto al origen de los primates muestreados (Cuadro 7), no se observó diferencia significativa ($p>0.05$) en animales nacidos en el zoológico y los de origen “externo”. Si bien no es posible descartar la posibilidad de que los animales no nacidos en el parque hayan adquirido la infección fuera de este, es notable la alta prevalencia del *Toxoplasma gondii* en estos mamíferos. Esto posiblemente se deba, a que la mayoría de estos primates provienen de abandono, es decir, animales que han tenido contacto con humanos en zonas rurales o urbanas donde la población de gatos es elevada (Teneter *et al.*, 2000).

En cuanto a la variable tiempo en la institución de los primates no humanos (Cuadro 7), observamos que tampoco existe diferencia significativa ($p>0.05$). Similar a lo descrito por García *et al.* (2005), quienes evaluaron primates de la familia *Cebidae* en un zoológico de Brasil.

En relación a la variable tipo de alimentación (cuadro 7), animales de hábitos omnívoros y frugívoros presentaron diferencia significativa ($p<0.05$), siendo de mayor riesgo el ser omnívoro (OR: 40.9). Posiblemente se deba al hábito que tienen ciertos monos de ingerir insectos que pueden actuar como hospederos paraténicos de los ooquistes, (Dubey y Lindsay, 2004). Asimismo, según la especie de primates se les ofrece carne (vegetales, frutas, huevo, etc.), servidos en bandejas para su consumo *ad libitum*, lo que permite el contacto directo del alimento con el suelo, donde los ooquistes de *T. gondii* pueden sobrevivir hasta 18 meses en condiciones favorables de temperatura y humedad (Frenkel., 1987). Condiciones presentes en el parque no solo por el continuo cuidado, sino también porque el hábitat donde se desenvuelven los animales se asemeja a su hábitat natural, medio ideal para la esporulación y sobrevivencia de los ooquistes.

En el cuadro 8, se detalla la distribución de anticuerpos totales y anticuerpos IgM anti-*T. gondii* en mamíferos del Orden Carnivora y Primates mantenidos en cautiverio, observándose una distribución homogénea de los anticuerpos totales mayor al 80% en las diferentes familias, excepto en la *Pitheciidae* (12,5%) y *Canidae* (0%). En el caso de la baja seropositividad en los monos huapo negro (*Pithecia monachus*), se debería probablemente a que están dispuestos en un ambiente cerrado, rodeado de vidrios, por lo que el ingreso de gatos y roedores es menor, además se ha señalado que estos primates son de hábitos arbóreos (Defler, 2003), utilizando principalmente los estratos alto, medio e inferior del bosque, y solo el suelo para huir de sus depredadores (Aquino y Encarnación, 1994), por lo que el contacto con los posibles ooquistes esporulados presentes en el suelo es mucho menor al de primates de conducta terrestre. En el caso de la familia *Canidae* el porcentaje obtenido fue de 0 %, en contraste con la encontrado por Fuchs *et al.* (2005) en un zoológico de argentina, donde señalan un 28% de Zorros (*Pseudalopex gymnocercus*) seropositivos utilizando la prueba de HAI, esta diferencia posiblemente es por el escaso número de animales evaluados de esta familia.

Por otro lado, la distribución de los anticuerpos de tipo IgM (Cuadro 8) fue mayor en el Orden Carnivora (44,2%) que en Primates (21,4%), la presentación de anticuerpos IgM son indicadores de una probable infección reciente o activa, o de una alta frecuencia de reinfección, lo cual sería posiblemente por el consumo de carne cruda, sin congelar o inadecuadamente congelada, infectada con quistes tisulares, lo que desencadenaría la presentación de anticuerpos IgM detectados, desde el día 6 y 9, con picos en el día 12 al 22 Post-infección (Bouer, 1999; Carvalho, 1998), hasta por 16 semanas según Lappin *et al.* (1989). Así mismo, la media geométrica de títulos obtenida fue de 445 (Cuadro 8), lo cual indicaría que la infección por *T. gondii* en esta institución es endémica, atribuible a una fuerte contaminación ambiental por ooquistes de *Toxoplasma gondii* y reservorios de quistes tisulares, como lo son las ratas (Webster, 1994). Lo cual es respaldado por el mayor porcentaje de títulos de anticuerpos totales observado en ambas Ordenes, siendo el título más frecuente (>30%) el de 1:2048 (Cuadro 9).

Entre los factores que podrían favorecer la alta seroprevalencia de anticuerpos, serían las condiciones ambientales presentes en el Parque Zoológico, las cuales permiten la sobrevivencia de los ooquistes, eliminados por los felinos silvestres y domésticos, ya que existe un continuo cuidado y riego de los diversos ambientes de los animales y las áreas verdes. Asimismo, es posible que los trabajadores de forma accidental realicen una diseminación de los ooquistes a través del material de limpieza o su vestimenta, ya que una persona es responsable de más de una diferente área (Dah-Sheng *et al.*, 2009).

Otro factor importante es el continuo estrés que reciben los animales, debido a las prácticas de manejo que se realizan para su control sanitario (Miller y Fowler, 2012), el cual consiste en una contención física, mediante el uso de redes o jaulas, seguida de una sedación, para su evaluación respectiva, registro de constantes fisiológicas, curación de heridas, toma de muestras sanguíneas, etc. Otra situación de estrés, es la continua exhibición de estos ejemplares al público visitante, los cuales arrojan alimento o desperdicios al ambiente del animal. Aunque teóricamente, los animales silvestres mantenidos en cautiverio son más susceptibles a adquirir diversas enfermedades de algún agente oportunista como *T. gondii* (Miller y Fowler, 2012), los animales del

presente estudios han demostrado poseer una aparente resistencia, la cual queda de manifiesto, por la escasa manifestación clínica de la toxoplasmosis (Dah-Sheng *et al.*, 2009).

Otro aspecto importante, es la posible contaminación a través del agua de bebida, la cual procede de un pozo artesanal propio del parque, que provee agua suficiente para brindarla a los animales, siendo utilizada también para el lavado de los alimentos. Esta posible forma de contaminación se ha documentado en diversos países, como en Panamá donde 31 de 98 soldados estadounidenses se contaminaron por consumir agua en una zona selvática, en cuyas proximidades habitaban gatos y felinos silvestres (Aramini *et al.*, 1999). Igualmente en British Columbia (Canadá) se registraron 110 casos de toxoplasmosis asociada al consumo de agua, debido a que estas aguas solo eran sometidas a la desinfección (Solarte *et al.*, 2006), siendo las técnicas tratamiento primaria y secundaria incapaces de eliminar los ooquistes o esporocistos presentes en el agua (Payment *et al.*, 2001). Asimismo, se determinó el papel de los gatos domésticos y salvajes para mantener la contaminación por ooquistes en estas áreas debido a su proximidad (Aramini *et al.*, 1999).

En el cuadro 10, la frecuencia de *Toxoplasma gondii* en roedores (*Rattus* sp.) capturados del parque zoológico fue de 25,3%, superior a lo hallado por Dubey *et al.* (2006), quienes mencionan una prevalencia de 0,8% de anticuerpos anti *T. gondii* en ratas urbanas de Granada, mediante la prueba de MAT; sin embargo, fue similar a la hallada por Webster (1994), quien obtuvo una prevalencia de 35% en ratas de granjas rurales de Rusia. Si bien la prevalencia de *T. gondii* en estos animales fue moderada, estudios serológicos realizados en roedores del género *Rattus* sp., demuestran que la seropositividad está influenciada por la cantidad de ooquistes ingeridos, la cepa de *T. gondii* y la especie del roedor, ya que ciertas especies de ratas (*Rattus norvegicus*) son más resistentes (Dubey y Frenkel, 1998). Aunque, la prueba de HAI tiene una sensibilidad de 81.6% y una especificidad de 97.1% demostrada en porcinos (Jones *et al.*, 1986), es considerada inconsistente en ratas, ya que en diversos estudios, utilizando sueros provenientes de ratas inoculadas con taquizoítos, estas seroconvertían entre 3 a 10 semanas y otras nunca lo hicieron (Lunde y Jacobs, 1963), siendo una de las técnicas

más usadas para el diagnóstico de *T. gondii* la prueba de MAT por su mayor sensibilidad y especificidad (Dubey *et al.*, 1995).

En el cuadro 11, la frecuencia de *T. gondii* en gatos domésticos presentes en el parque zoológico fue de 77,8%, superior a lo reportado por de Camps *et al.* (2008), quienes señalan una frecuencia de 29,4% en felinos asilvestrados en zoológicos de los Estados Unidos. Esta seropositividad sugiere que estos animales ya fueron expuestos al parásito y han eliminado los ooquistes durante su primoinfección (Dubey, 2010; Frenkel *et al.*, 1995). Si bien la alta densidad de gatos presentes en el parque es problemático, diversos estudios han demostrado que la presencia de estos no influye en la alta prevalencia de Toxoplasmosis en los animales (Webster, 1994).

Finalmente, se podría concluir que el elevado número de animales seropositivos con títulos altos (1: 2048) obtenidos en el presente estudio se debería a múltiples factores que contribuyen de manera sinérgica a la presentación de la toxoplasmosis, siendo de mayor importancia la alimentación de dichos animales con carne cruda sin congelar y la elevada densidad de gatos y roedores, que cohabitan con los animales silvestres en dicho centro.

VI. CONCLUSIÓN

La seroprevalencia de *T. gondii* en mamíferos del Orden Carnivora y Primates criados en cautiverio fue de 87,8 y 80,8% respectivamente.

Se identifico el tipo de alimentación (omnívoro) como un factor de riesgo (OR: 40,9) para la presentación de la toxoplasmosis en Primates.

VII. RECOMENDACIONES

Se recomienda evaluar la totalidad de mamíferos silvestres presentes en el Patronato del Parque de las Leyendas (PATPAL).

También realizar la evaluación serológica, histopatológica e inmunohistoquímica de los animales de saca.

Se recomienda realizar mayores estudios en los gatos y roedores presentes en el PATPAL.

VIII. LITERATURA CITADA

1. **Acha P, Szyfres B. 2003.** Zoonosis y Enfermedades Transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2^a ed. Washington: OPS. 413 p.
2. **Afonso EM, Lemoine ML. 2008.** Spatial distribution of soil contamination by *Toxoplasma gondii* in relation to cat defecation behaviour in an urban area. Int J Parasitol 38: 1017–1023.
3. **Akuzawa M, Mochizuki M, Yasuda N. 1987.** Hematological and parasitological study of the Iriomote cat (*Prionailurus iriomotensis*). Can J Zool 65: 946–949.
4. **Alves T, De Lima R. 2004.** Encephalitis caused by *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs. Clínica Veterinária 48: 44 – 52.
5. **Amato Neto V, Campos R, Baruzzi R, Duarte M. 1995.** Toxoplasmose. 2^a ed. São Paulo: Sarvier. 154 p.
6. **Aquino R, Encarnación R. 1994.** Primates of Peru. Primate Report 40: 1-127
7. **Aramini JJ, Stephen C, Dubey JP. 1998.** *Toxoplasma gondii* in Vancouver Island cougars (*Felis concolor vancouverensis*): Serology and oocyst shedding. J Parasitol 84: 438–440.
8. **Arkush KD, Miller MA, Leutenegger CM, Gardner IA, Packham AE, Heckeroth AR, Teneter AM, Barr BC, Conrad PA. 2003.** Molecular and bioassay-based detection of *Toxoplasma gondii* oocyst uptake by mussels (*Mytilus galloprovincialis*). Int J Parasitol 33: 1087–1097.

9. **Atias A, Thiermann E. 1997.** Toxoplasmosis. En: Atias A, eds. Parasitología médica. 4^a ed. Santiago de Chile: Publicaciones Mediterráneo p 269-282.
10. **Bankowski Z, Howard-Jones N. 1986.** International guiding principles for biomedical research involving animals. Geneva: WHO. 26 p.
11. **Barriga O. 1997.** Inmunología de las infecciones parasitarias. En: Parasitología médica. A. Atías. Ed. Mediterráneo. Santiago-Chile. p 67-101,
12. **Basso W, Edelhofer R, Zenker W, Möstl K, Kübber-Heiss A, Prosl H. 2005.** Toxoplasmosis in Pallas's cats (*Otocolobus manul*) raised in captivity. Parasitol 130: 293–299.
13. **Benítez AM, del Castillo F, Salas S, San José MA, Martínez-Zapico R. 1998.** Valor de los anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma gondii* durante la gestación. Clin Invest Gin Obst 25:107-110.
14. **Biage FF. 2004.** Enfermedades parasitarias. 3^a ed. México DF: El manual moderno. 401p.
15. **Bonhomme A, Pingret L, Pinon JM. 1992.** Review: *Toxoplasma gondii* cellular invasion. Parasitologia 34: 31-43.
16. **Borbolla M, Izquierdo R, Piña O, Martínez G, López D, Ulan J. 2005.** Taquizoítos de *Toxoplasma gondii*. Salud Tab 11(3): 394-399.
17. **Botero D, Restrepo M. 1998.** Parasitosis humana. 3^a ed. Medellín: Corporación para investigaciones biológicas. 501 p.
18. **Bouer A, Werther K, Catão-Dias JL Nunes ALV. 1999.** Outbreak of toxoplasmosis in *Lagothrix lagotricha*. Folia Primatol 70 (5): 282-285.
19. **Briscoe N, Humphreys JG, Dubey JP. 1993.** Prevalence of *Toxoplasma gondii* Infections in Pennsylvania Black Bears, *Ursus americanus*. Journal of Wildlife Diseases 29(4): 599-601
20. **Cadavid A, Canas L, Estrada J, Ramírez L. 1991.** Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in *Cebus* spp. in the Santa Fe Zoological Park of Medellin, Colombia. J Med Primatol 20: 259-261.
21. **Cheadle MA, Spencer JA, Blackburn BL. 1999.** Seroprevalences of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in nondomestic felids from southern Africa. Journal of Zoo and Wildlife Medicine 30: 248–251.
22. **Cordero del Campillo M, Rojo-Vásquez F, Martínez A, Sánchez M. 1999.** Parasitología veterinaria. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. 968 p.
23. **Cordero del Campillo M. 1973.** Sobre la epidemiología de la toxoplasmosis. Revista Iberica de Parasitología 33: 347-406.

24. **Dabritz HA, Atwill ER, Gardner IA, Miller MA, Conrad PA. 2006.** Outdoor fecal deposition by free-roaming cats and attitudes of cat owners and nonowners toward stray pets, wildlife, and water pollution. *J Am Vet Med Assoc* 229: 74–81.
25. **Dah-Sheng LN, Nien-Chieh S, Chang-Young AF. 2009.** Prevalences of Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Taipei Zoo Animals. *Taiwan Vet J* 35 (1): 43–48.
26. **De Camps S, Dubey JP, Saville WJA. 2008.** Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in zoo animals in selected zoos in the midwestern United States. *Journal of Parasitology* 94: 648–653.
27. **Defler TR. 2003.** Primates de Colombia Conservation International de Colombia. Bogotá: serie de guías tropicales de campo 4. 547 p.
28. **Demar M, Ajzenberg D, Serrurier B, Darde ML, Carme B. 2008.** Case report: atypical *Toxoplasma gondii* strain from a free-living jaguar (*Panthera onca*) in French Guiana. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 78: 195–197.
29. **Desmonts G, Couvreur, Alison F, Baudelot J, Gerbeaux J, Lelong M. 1965.** Etude epidemiologique sur la toxoplasmose: de l'influence de la cuisson des viandes de boucherie sur la frequence de l'infection humaine. *Rev Fr Études Clin. Biol* 10: 952–958.
30. **Dorny P, Franssen AJ. 1989.** Toxoplasmosis in a Siberian tiger (*Panthera tigris altaica*). *Vet Rec* 125: 647.
31. **Dubey JP. 1973.** Feline toxoplasmosis and coccidiosis: a survey of domiciled and stray cats. *J Am Vet Med Assoc* 162: 873–877.
32. **Dubey JP. 1980.** Persistence of encysted *Toxoplasma gondii* in caprine levers and public health significance of toxoplasmosis in goats. *J Am Vet Med Assoc* 15: 1203 – 1207.
33. **Dubey JP. 1994.** Toxoplasmosis. *J Am Vet Med Assoc* 205: 1593-1598.
34. **Dubey JP. 1996.** Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. *J Parasitol* 82: 957-961.
35. **Dubey JP. 1998.** Reexamination of resistance of *Toxoplasma gondii* tachyzoites to pepsin digestion. *Parasitol* 116:43-50.
36. **Dubey JP. 2004.** Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. *Vet Parasitol* 126: 57-72.
37. **Dubey JP. 2010.** Toxoplasmosis of animals and humans. 2a ed. Maryland: CRC Press. 336 p.

38. **Dubey JP, Frenkel JK. 1972.** Cyst-induced toxoplasmosis in cats. *J Protozool* 19: 155–177.
39. **Dubey JP, Frenkel JK 1974.** Immunity to feline toxoplasmosis: modification by administration of corticosteroids. *Vet Pathol* 11: 350–379.
40. **Dubey JP, Frenkel JK. 1976.** Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of *Toxoplasma* cysts. *J Protozool* 23: 537–546.
41. **Dubey JP, Desmonts G. 1987.** Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Equine Vet J* 19: 337–339.
42. **Dubey JP, Beattie C. 1988.** Toxoplasmosis of animal and man. Florida: CRC Press. 320p.
43. **Dubey, JP, Lappin M. 2000.** Toxoplasmosis y Neosporosis. En: Enfermedades infecciosas en perros y gatos. 2^a ed. Mexico DF: Mc Graw Hill Interamerica. p 542-553.
44. **Dubey JP, Carpenter JL. 1993.** Neonatal toxoplasmosis in littermate cats. *J Am Vet Med Assoc* 203: 1546–1549
45. **Dubey JP, Frenkel JK. 1998.** Toxoplasmosis of rats: a review, with considerations of their value as an animal model and their possible role in epidemiology. *Vet Parasitol* 77: 1–32.
46. **Dubey JP, Jones JL. 2008.** *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int J Parasitol* 38: 1257–1278.
47. **Dubey JP, Lindsay DS. 2004.** Biology of *Toxoplasma gondii* in Cats and Other Animals. En: Lindsay DS y Weiss LM. World Class Parasites Volumen 9: Opportunistic Infections: Toxoplasma, Sarcocystis, and Microsporidia. US: Springer. p 1-19.
48. **Dubey JP, Millar NL, Frenkel KL. 1970.** The *Toxoplasma gondii* oocysts from cat faeces. *J Exp Med* 132: 636-662.
49. **Dubey JP, Gendron-Fitzpatrick AP, Lenhard AL, Bowman D. 1988.** Fatal toxoplasmosis and enteroepithelial stages of *Toxoplasma gondii* in a Pallas cat (*Felis manul*). *J Protozool* 35: 528–530.
50. **Dubey JP, Lappin MR, Thulliez P. 1995.** Long-term antibody responses of cats fed *Toxoplasma gondii* tissue cysts. *J Parasitol* 81: 887–893.
51. **Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. 1998.** Structures of *Toxoplasma gondii*, tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin Microbiol Rev* 11(2): 267-299.
52. **Dubey JP, Speer CA, Shen SK, Kwok OCH, Blixt JA. 1997.** Oocyst-induced murine toxoplasmosis: life cycle, pathogenicity, and stage conversion in mice fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *J Parasitol* 83:870-882.

53. **Dubey JP, Thulliez P, Weigel R, Andrews C, Lind P, Powell E. 1995.** Sensitivity and specificity of various serologic test for detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sows. *Am J Vet Res* 56(8):1030-1036.
54. **Dubey JP, Weigel RM, Siegel AM. 1995.** Sources and reservoirs of *Toxoplasma gondii* infection on 47 swine farms in Illinois. *J Parasitol* 81: 723–729.
55. **Dubey JP, Bhaiyat MI, Macpherson CNL, de Allie C, Chikweto A, Kwok OCH, Sharma RN. 2006.** Prevalence of *Toxoplasma gondii* in Rats (*Rattus norvegicus*) in Grenada, West Indies. *J Parasitol* 92 (5): 1107–1108.
56. **Ferguson DJP, Hutchison WM. 1997.** An ultrastructural study of the early development and tissue cyst formation of *Toxoplasma gondii* in the brains of mice. *Parasitol Res* 73: 483- 491.
57. **Fiorello CV, Robbins RG, Maffei L, Wade SE. 2006.** Parasites of free-ranging small canids and felids in the Bolivian Chaco. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 37: 130–134.
58. **Flores A. 1991.** La Toxoplasmosis: consideraciones económicas, técnicas y sanitarias. *Nuestra Cabaña* 226: 4-8.
59. **Freij B, Server J. 1991.** Toxoplasmosis. *Red Book / Pediatrics in Review/ Self – Assessment Exercises*. 12(8): 24.
60. **Frenkel JK. 1978.** Toxoplasmosis in cats: diagnosis, treatment and prevention. *Comparative immunology and Infectious Diseases* 1 (1): 15-20
61. **Frenkel JK, Dubey JP, Miller NL. 1970.** *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science* 167: 893–896.
62. **Frenkel JK, Hassanein KM, Hassanein RS, Brown E, Thulliez P, Quintero-Nunez P. 1995.** Transmission of *Toxoplasma gondii* in Panama City, Panama: a five-year prospective cohort study of children, cats, rodents, birds, and soil. *Am J Trop Med Hyg* 53: 458–468.
63. **Freyre A. 1989.** Toxoplasmosis en las especies domésticas y como zoonosis. Montevideo: Departamento de Publicaciones de la Universidad de la República de Uruguay. 332 p.
64. **Fuchs L, Baldone V, Rojas M, Fort M, Bedotti D, Venturini C, Salado IEC. 2005.** Prevalencia serológica a toxoplasmosis y neosporosis en el zorro gris pampeano (*Pseudalopex gymnocercus*) en la provincia de la pampa (Argentina). *Boletín de divulgación técnica EEA Anguil* 90: 122-128
65. **Garcia JL, Navarro IT, Ogawa L, Oliveira RC, Kobilka E. 1999.** Soroprevalência, epidemiologia e avaliação ocular da toxoplasmose humana na zona rural de Jaguapita (Paraná), Brasil. *Revista Panamericana de Salud Pública* 6 (3): 157-163.

66. **Garcia JL, Svoboda WK, Chryssafidis AL, Malanski L, Shiozawa MM, Aguiar L, Monteiro G, Ludwig G, da Silva LR, Hilst C, Navarro IT. 2005.** Sero-epidemiological survey for toxoplasmosis in wild New World monkeys (*Cebus* spp.; *Alouatta caraya*) at the Parana´ river basin, Parana´ State, Brazil. *Vet Parasitol* 133: 307–311.
67. **Gazzinelli RT, Wysocka M, Hieny S, Schar-ton-Kersten T, Cheever A, Kuhn, R., Meiller W, Trinchieri G, Sher A. 1996.** In the absence of endogenous IL10, mice acutely infected with *Toxoplasma gondii* succumb to a lethal immune response dependent on CD4+ T cells and accompanied by overproduction of IL12, IFN- γ and TNF- α . *J Immunol* 157: 798-805.
68. **Gómez F. 2004.** Estudio sobre la toxoplasmosis en Andorra y el Alto Urgel. Tesis de Médico Veterinario. Barcelona: Univ. de Barcelona. 289 p.
69. **Gómez O, Chávez A, Casas E, Serrano E. 2003.** Determinación de la seroprevalencia de toxoplasmosis en alpacas y llamas en la estación experimental INIA-Puno. *Rev Inv Vet Perú* 14 (Supl. 1): 49-53.
70. **Gómez-Marin J, Valere A, Bonhomme A, El Btaouri H, Antonicelli F, Burlet H, Aubert D, Villena I, Guenounou M, Haye B, Pinon JM. 1998.** Interferon- signal transduction during parasite infection: modulation of MAP kinases in the infection of human monocyte cells (THP1) by *Toxoplasma gondii*. *Parasitol Immunol* 20: 631-635.
71. **Green C. 2000.** Enfermedades infecciosas en perros y gatos. 2ª ed. México: Interamericana. Paginas
72. **Gross U, Kempf MC, Seeber F, Luder CGK, Lugert R, Bohne W. 1997.** Reactivation of chronic toxoplasmosis: is there a link to strain-specific differences in the parasite?. *Behring Inst Mitt* 99: 97-106.
73. **Gutierrez J, Rodríguez M, Piédrola, Maroto MO. 1997.** Detection of IgA and low-avidity IgG antibodies for the diagnosis of recent active toxoplasmosis. *Clin Microbiol Infect* 3: 658-662.
74. **Hamad AH, Sousa H, Barrêto-Júnior RA, Lobo Neves KA, de Jesus HF, Lippi E, Dubey JP, Gennari SM. 2010.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in captive wild mammals and birds in Brazil. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 41 (3): 572–574.
75. **Hill D, Dubey JP. 2002.** *Toxoplasma gondii*: Transmission, diagnosis y prevention. *Clin Microbiol Infect* 8: 634-640.
76. **Hove T, Mukaratirwa S. 2005.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in farm-reared ostriches and wild game species from Zimbabwe. *Acta Tropica* 94: 49–53.
77. **Janitschke K, Werner H. 1972.** Untersuchungen uber die Wirtsspezifitat des geschlechtlichen Entwicklungszyklus von *Toxoplasma gondii*. *Z Parasitenk* 39: 247–254.

78. **Jewell ML, Frenkel JK, Johnson KM, Reed V, Ruiz A. 1972.** Development of *Toxoplasma* oocysts in neotropical *felidae*. *Am J Trop Med Hyg* 21: 512-517.
79. **Jones TC, Bienz KW, Erb P. 1986.** In vitro cultivation of *Toxoplasma gondii* cysts in astrocytes in the presence of gamma interferon. *Infect Immun* 51:147-156.
80. **Kasper LH, Buzoni-Gatel D. 1998.** Some opportunistic parasitic infections in AIDS: Candidiasis, Pneumocystosis, Cryptosporidiosis, Toxoplasmosis. *Parasitology Today* 14: 150-156.
81. **Kikuchi Y, Chomel BB, Kasten RW, Martenson JS, Swift PK, O'Brien SJ. 2004.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in American free-ranging or captive pumas (*Felis concolor*) and bobcats (*Lynx rufus*). *Vet Parasitol* 120: 1–9.
82. **Kim K, Weiss LM. 2008.** Toxoplasma: the next 100 years. *Microbes infect* 10 (9): 978-984.
83. **Lappin MR, Greene CE, Prestwood AK, Dawe DL, Tarleton RL. 1989.** Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of circulating antigens of *Toxoplasma gondii* in the serum of cats. *Am J Vet Res* 50 (9): 1586-1590.
84. **Lappin MR, Jacobson ER, Kollias GV, Powell CC, Stover J, 1991.** Comparison of serologic assays for the diagnosis of toxoplasmosis in nondomestic felids. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 22: 169–174.
85. **Leguía G. 2002.** Enfermedades parasitarias de perros y gatos – epidemiología y control. 2ª ed. Lima: La Mar. 155 p.
86. **Leguía G, Casas E. 1999.** Enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de Camélidos Sudamericanos. Lima: Editorial de Mar. 190 p.
87. **Leguía G, Samamé H, Guerrero C, Rojas M, Nuñez A. 1987.** Prevalencia de anticuerpos contra *T. gondii* en alpacas. *Rev Cienc Vet* 3: 19-21.
88. **Leite TN, Maja T, Ovando TM, Cantadori DM, Schmidt LS, Guércio AC, Cavalcanti A, Lopes FMR, da Cunha IAL, Navarro IT. 2008.** Ocorrência de infecção por *Leishmania* spp. e *Toxoplasma gondii* em macacos-prego (*Cebus apella*) de Campo Grande, MS. *Rev Bras Parasitol Vet* 17 (Supl. 1) : 307-310.
89. **Li LL, Wartmann M, Yin A, Knopf JL, Seth A, Davis RJ. 1993.** cPLA2 is phosphorylated and activated by MAP kinase. *Cell* 72: 269.
90. **Lindsay DS, Dubey JP. 2009.** Long-term survival of *Toxoplasma gondii* sporulated oocysts in seawater. *J Parasitol* 95 (4): 1119- 1120.
91. **Lindsay DS, Blagburn BL, Dubey JP. 1997.** Feline toxoplasmosis and the importance of the *Toxoplasma gondii* oocyst. *Parasitol* 19 (4): 448-461.

92. **Lindsay DS, Blagburn BL, Dubey JP. 2002.** Survival of nonsporulated *Toxoplasma gondii* oocysts under refrigerator conditions. *Vet Parasitol* 103(4):309-313.
93. **Lindsay DS, Collins MV, Mitchell SM, Wetch CN, Rosypal AC, Flick GJ, Zajac AM, Lindquist A, Dubey JP. 2004.** Survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in eastern oysters, (*Crassostrea virginica*). *J Parasitol* 90: 1054–1057.
94. **Llop A, Valdez M, Zuazo J. 2001.** Microbiología y Parasitología Médicas. La Habana: Ciencias Médicas. 141-150 p.
95. **Lukešová D, Literák I. 1998.** Shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by *Felidae* in zoos in the Czech Republic. *Vet Parasitol* 74: 1–7.
96. **Lunde MN, Jacobs L. 1963.** *Toxoplasma* hemagglutination and dye test antibodies in experimentally infected rats. *J Parasitol* 49: 932–936.
97. **Luzón M, Alonso A, Quintanilla-Gonzalo A. 1997.** Toxoplasmosis Neosporosis. *Aula Veterinaria Ovis. Tratado de patología y reproducción ovina.* (52): 11-17.
98. **Marchiondo AA, Duszynski DW, Maupin GO. 1976.** Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild and domestic animals of New Mexico, Arizona and Colorado. *J Wildlife Dis* 12: 226–232.
99. **Martínez-Fernández AR, Fuentes I, Rodríguez M, Domingo CJ. 1998.** Toxoplasmosis. *Medicine* 7 (81): 3760–3766.
100. **Martín-Hernández I, García-Izquierdo S. 2003.** Toxoplasmosis en el hombre. *Bioquímica.* 28 (3): 19-27.
101. **Mereiles, L. 2001.** Estudo das fontes de Infecção da Toxoplasmose Humana em diferentes localidades do Estado de São Paulo. Tesis de Mestre em Ciências, São Paulo: Univ. de São Paulo. 171p.
102. **Miller NL, Frenkel JK, Dubey JP. 1972.** Oral infections with *Toxoplasma* cysts and oocysts in felines, other mammals, and in birds. *J Parasitol* 58: 928–937.
103. **Miller MA, Gardnerb IA, Kreuder C, Paradies DM, Worcester KR, Jessup DA, Dodd E, Harris MD, Ames JA, Packham AE, Conrad PA. 2002.** Coastal freshwater runoff is a risk factor for *Toxoplasma gondii* infection of southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). *Int J Parasitol* 32: 997–1006.
104. **Miller MA, Miller WA, Conrad PA, James ER, Melli AC, Leutenegger CM, Dabritz HA, Packham AE, Paradies D, Harris M, Ames J, Jessup DA, Worcester K, Grigg ME. 2008.** Type X *Toxoplasma gondii* in a wild mussel and terrestrial carnivores from coastal California: new linkages between terrestrial mammals, run off and toxoplasmosis of sea otters. *Int J Parasitol* 38: 1319–1328.

105. **Miller E, Fowler ME. 2012.** Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine. El Sevier. 669p.
106. **Mills J, Childs J, Ksiazek T, Peters CJ, Velleca WM. 1998.** Métodos para trampeo y muestreo de pequeños mamíferos para estudio virológico. Organización Panamericana de la Salud, Washington, District of Columbia, USA. 64 p. [Internet], [29 noviembre 2012]. Disponible en: http://www.paho.org/spanish/HCP/HCT/hct_98104.pdf
107. **Montoya E, Ique C, Samamé H, Romaina A. 2000.** Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en *Aotus vociferans* (Primates: *Cebidae*) en cautiverio. Rev de Cienc Vet Perú 16: 22-24.
108. **Morisaki J, Heuser JF, Sibley LD. 1995.** Invasión of *Toxoplasma gondii* occurs by active penetration of the host cell. J Cell Sci 108: 2457-2464.
109. **Muñoz E, Chávez A, Casas E, Suárez F, Gavidia C, Muñoz K, Gutiérrez F. 2005.** Frecuencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en monos *Cebus apella* criados en cautiverio. Rev Inv Vet Perú 16 (2): 163-168. .
110. **Oksanen A, Sbakk KA, Prestrud KW, Aars J, Derocher AE, Tryland M, Wiigs O, Dubey JP, Sonne C, Dietz R, Andersen M, Born EW. 2009.** Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in polar bears (*Ursus maritimus*) from svalbard and east Greenland. J Parasitol 95(1): 89-94.
111. **Ovalle F, García A, Thibauth A. 2000.** Frecuencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en gatos de la ciudad de Valdivia, Chile. Bol chil Parasitol 55(3-4): 94-99.
112. **Pantoja R, Pérez L. 2001.** Reseña histórica acerca de las investigaciones relacionadas con la toxoplasmosis. Rev Cubana Med Trop 53(2): 111-117.
113. **Patton S, Rabinowitz A, Randolph S, Johnson SS. 1986.** A coprological survey of parasites of wild neotropical felidae. J Parasitol 72: 517-520.
114. **Paul-Murphy J, Work T, Hunter D, McFie E, Fjelline D. 1994.** Serologic survey and serum biochemical reference ranges of the free-ranging mountain lion (*Felis concolor*) in California. Journal of Wildlife Diseases 30: 205-215.
115. **Payment P, Plante R, Cejka P. 2001.** Removal of indicator bacteria, human enteric viruses, Giardia cysts, and Cryptosporidium oocysts at a large wastewater primary treatment facility. Can J Microbiol 47:188- 193.
116. **Pezhorn BL, Stylianides E, Van Vuuren M, Alexander K, Meltzer DGA, Mukarati N. 2002.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in free-ranging lion and leopard populations in southern Africa. South African Journal of Wildlife Research 32: 163-165.
117. **Phillippa JDW, Leighton FA, Daoust PY, Nielsen O, Pagliarulo M, Schwantje H, Shury T, Van Herwijnen R, Martina BEE, Kuiken T, Van de Bildt MWG, Osterhaus ADME. 2004.** Antibodies to selected pathogens in

free-ranging terrestrial carnivores and marine mammals in Canada. Veterinary Record 155: 135–140.

118. **Pimentel JS, Gennari SM, Dubey JP, Marvulo MFV, Vasconcellos SA, Morais ZM, Silva JCR, Neto JE. 2009.** Inquérito sorológico para toxoplasmose e leptospirose em mamíferos selvagens neotropicais do Zoológico de Aracaju, Sergipe. *Pesq Vet Bras* 29 (12): 1009-1014.
119. **Pizzi H. 1997.** Toxoplasmosis Rhone Poulenc Roner. Buenos aires: 84 p.
120. **Pizzi HL, Rico CM, Pessat OAN. 1978.** Hallazgo del ciclo ontogenico selvatico del *Toxoplasma gondii* en felidos salvajes (*Oncifelis geofroyi*, *Felis colocolo* y *Felis eira*) de la Provincia de Cordoba. *Revista Militar de Veterinaria* 25: 293–300.
121. **Polomoshnov AP. 1979.** Definitive Hosts of Toxoplasma: Problems of Natural Nidality of Diseases. *Kazakh Academy of Sciences* 10: 68–72.
122. **Remington JS, Miller MJ, Brownlee I. 1984.** IgM antibodies in acute toxoplasmosis: I. Diagnosis significance in congenital cases and a method for their rapid demonstration. *Pediatrics* 41: 1082-1091.
123. **Roelke ME, Johnson WE, Millan J, Palomares F, Revilla E, Rodriguez A, Calzada J, Ferreras P, Leon-Vizcaino L, Delibes M, O'Brien SJ. 2008.** Exposure to disease agents in the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *European Journal of Wildlife Research* 54: 171–178.
124. **Rojas M. 2003.** Nosoparasitosis de perros y gatos peruanos. Lima: Martegraf. 383 p.
125. **Salant H, Weingram T, Spira DT, Eizenberg T. 2009.** An outbreak of Toxoplasmosis amongst squirrel monkeys in an Israeli monkey colony. *Vet Parasitol* 159: 24–29.
126. **Samamé H, Gozalo A, Montoya E, Villavicencio E, Romaina A, Moro J. 1995.** Anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en primates neotropicales. *Rev Cienc Vet Perú* 3: 5-8.
127. **Samuel WM, Pybus JM, Konan A. 2001.** Parasitic diseases of wild mammals. 2^a ed. Iowa: State University Press. 559 p.
128. **Sanger V, Chamberlain D, Chamberlain K, Cole C, Farrel R. 1953.** Toxoplasmosis V: Isolation of Toxoplasma from cattle. *J Am Vet Med Assoc* 123: 87-91.
129. **Santoro F, Afchain D, Pierce R, Cesbron JY, Ovlaque G, Capron A. 1985.** Serodiagnosis of *Toxoplasma gondii* infection using a purified parasite protein (P30). *Clin Exp immunol* 62: 262-269.
130. **Schares G, Vrhovec MG, Pantchev NC, Herrmann DC, Conraths FJ. 2008.** Occurrence of *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi* oocysts in

the faeces of cats from Germany and other European countries. *Vet Parasitol* 152: 34–45.

131. **Sedlák K, Bártová E. 2006.** Seroprevalences of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in zoo animals. *Vet Parasitol* 136: 223–231.
132. **Sharma SD, Mullenas J, Araujo FG, Erlich HA, Remington JS. 1983.** Western blot analysis of the antigens of *Toxoplasma gondii* recognized by human IgM and IgG antibodies. *J immunol*, 131: 943-947.
133. **Silva JCR, Ogassawara S, Adania CH, Ferreira F, Gennari SM, Dubey JP, Ferreira-Neto JS, 2001.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids from Brazil. *Vet Parasitol* 102: 217–224.
134. **Silva JCR, Ogassawara S, Marvulo MFV, Ferreira-Neto JS, Dubey JP. 2001.** *Toxoplasma gondii* antibodies in exotic wild felids from Brazilian zoos. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 32: 349–351.
135. **Silva JC, Vianna MF, Dias RA, Ferreira F, Amaku M, Adania CH, Ferreira JS. 2007.** Risk factors associated with sero-positivity to *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids from Brazil. *Prev Vet Med* 78: 286–295.
136. **Smith DD, Frenkel JK. 1995.** Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild mammals of Missouri and east central Kansas: biologic and ecologic considerations of transmission. *Journal of Wildlife Diseases* 31 (1): 15-21.
137. **Sobral CA, Amendoeira MRR, Teva A, Patel BN, Klein CH. 2005.** Seroprevalence of infection with *Toxoplasma gondii* in indigenos Brazilian populations. *Am J Trop Med Hyg* 72 (1): 37-41.
138. **Sobrino R, Cabezón O, Millán J, Pabón M, Arnal MC, Luco DF, Gortázar C, Dubey JP, Almeria S. 2007.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in wild carnivores from Spain. *Vet Parasitol* 148: 187–192.
139. **Solarte Y, Peña M, Madera C. 2006.** Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo humano. *Colombia Médica* 73(1): 74-82.
140. **Soulsby E. 1987.** *Parasitología y enfermedades Parasitarias.* México DF: Interamericana. 823 p.
141. **Speer CA, Dubey JP, Blixt JA, Prokop K. 1997.** Time lapse video microscopy and ultrastructure of penetrating sporozoites, types 1 and 2 parasitophorous vacuolas, and the transformation of sporozoites to tachyzoites of the VEG strain of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol* 83: 565-574.
142. **Spence J, Beattie C, Paukner J, Watson W. 1978.** *Toxoplasma gondii* in the semen of rams. *Vet Rec* 102: 38-39.
143. **Spencer JA, Higginbotham MJ, Blagburn BL. 2003.** Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in captive and free-ranging

nondomestic felids in the United States. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 34: 246–249..

144. **Teneter AM, Heckerroth AR, Weiss LM. 2000.** *Toxoplasma gondii*: From animals to humans. *Int J Parasitol* 30(12-13): 1217-1258.
145. **Thiangtum K, Nimsuphun B, Pinyopanuwat N, Chimnoi W, Tunwattana W, Tongthainan D, Jittapalapong S, Rukkwamsuk T, Maruyama S. 2006.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in captive felids in Thailand. *Vet Parasitol* 136: 351–355.
146. **Ulmann LS, da Silva RC, de Moraes W, Cubas ZS, dos Santos LC, Hoffmann JL, Moreira N, Sa Guimaraes AM, Montano P, Langoni H, Biondo AW. 2010.** Serological survey of *Toxoplasma gondii* in captive Neotropical felids from Southern Brazil. *Vet Parasitol* 172: 144–146.
147. **Venturini L, Venturini M, OMATA Y, Di Lorenzo C, De Carolis G. 1997.** *Toxoplasma gondii*: La respuesta inmune por IgG durante el periodo patente en un gato doméstico infectado naturalmente. *Rev Med Vet* 78 (4): 258-260.
148. **Venturini M, di Lorenzo C, Pennimpee E. 2001.** Introducción al inmunodiagnóstico. Buenos aires: Universidad Nacional de la Plata. 57 p.
149. **Webster JP. 1994.** Prevalence and transmission of *Toxoplasma gondii* in wild brown rats, *Rattus norvegicus*. *J Parasitology* 108: 407-11.
150. **Weigel RM, Dubey JP, Dyer D, Siegel AM. 1999.** Risk factors for infection with *Toxoplasma gondii* for residents and workers on swine farms in Illinois, USA. *Am J Trop Med Hyg* 60: 793–799.
151. **Weinman D, Chandler AH. 1954.** Toxoplasmosis in swine and rodents. Reciprocal oral infection and potential human hazard. *Proc Soc Exp Biol Med*. 87: 211–216.
152. **Wiener Lab. 2000.** Prueba de hemaglutinación indirecta (HAI), para la detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*. [Internet], [29 noviembre 2012]. Disponible en: http://www.wiener-lab.com.ar/wiener/catalogo/archivos/6395_toxotest_hai_sp.pdf
153. **Xu LH, Wang YF, Chen JL, Xu ZX, Yu YF, Tao XM. 1989.** Studies on the fine structure of *Toxoplasma gondii* tachyzoite. *Chin J Parasitol Parasitic Dis* 7 (2): 105 – 107.
154. **Yilmaz SM, Hopkins SH. 1972.** Effects of different conditions on duration of infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. *J Parasitol* 58: 938–939.
155. **Zarnke RL, Dubey JP, Kwok OCH, Ver Hoef JM. 1997.** Serologic survey for *Toxoplasma gondii* in grizzly bears from Alaska. *Journal of Wildlife Diseases* 33(2): 267-270.

156. **Zarnke RL, Dubey JP, Kwok OCH, Ver Hoef JM. 2000. Serologic survey for *Toxoplasma gondii* in selected especies from Alaska. Journal of Wildlife Diseases 36(2): 219–224.**
157. **Zhang SY, Wei MX, Zhou ZY, Yu JY, Shi XQ. 2000. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in the sera of rare wildlife in the Shanghai Zoological Garden, People's Republic of China. Parasitol Int 49: 171-174.**